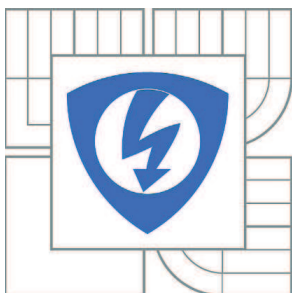


VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA ELEKTROTECHNIKY A KOMUNIKAČNÍCH
TECHNOLOGIÍ

ÚSTAV MIKROELEKTRONIKY

FACULTY OF ELECTRICAL ENGINEERING AND COMMUNICATION
DEPARTMENT OF MICROELECTRONICS

BIOSENZOR HALOGENOVANÝCH LÁTEK JAKO PŘÍSTROJ VYUŽÍVAJÍCÍ FLUORESCENČNÍ METODU

BIOSENSOR OF HALOGENATED SUBSTANCES AS DEVICE USING FLUORESCENCE METHOD

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

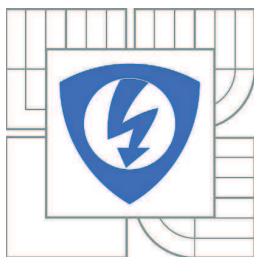
Bc. JIŘÍ SEDLÁČEK

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Ing. JAROMÍR HUBÁLEK, Ph.D.

BRNO 2010



**VYSOKÉ UČENÍ
TECHNICKÉ V BRNĚ**

**Fakulta elektrotechniky
a komunikačních technologií**

Ústav mikroelektroniky

Diplomová práce

magisterský navazující studijní obor
Mikroelektronika

Student: Bc. Jiří Sedláček

ID: 89956

Ročník: 2

Akademický rok: 2009/2010

NÁZEV TÉMATU:

Biosenzor halogenovaných látek jako přístroj využívající fluorescenční metodu

POKYNY PRO VYPRACOVÁNÍ:

V oblasti moderních biosenzorů se využívají nově objevené enzymy. Jedním takovým je dehalogenáza, kterou lze využít pro detekci halogenovaných látek. Metoda, která je předmětem zájmu, je založena na využití bioluminiscentu reagujícího na změny pH. Imobilizovaný enzym je zabudovaný do polymerního nosiče spolu s bioluminiscentem a nanesen na optické vlákno. Pro vyhodnocení přítomnosti halogenů je nutné postavit optoelektronické zařízení, které bude schopné vyhodnotit změny fluorescence v závislosti na změnách pH. K tomu bude nutné nastudovat princip fluorescenčního detektoru a následně navrhnout optickou i elektronickou část. Zařízení bude využívat excitační světlo na vlnové délce 590 nm a detekovat emisní záření 670 nm. Přístroj bude komunikovat s PC, a proto bude nutné vytvořit aplikaci v prostředí LabView, které bude přístroj ovládat a zpracovávat získaná data. Na závěr bude hotový přístroj ověřen při detekci halogenovaných pesticidů.

DOPORUČENÁ LITERATURA:

Dle pokynů vedoucího práce.

Termín zadání: 8.2.2010

Termín odevzdání: 27.5.2010

Vedoucí práce: doc. Ing. Jaromír Hubálek, Ph.D.

prof. Ing. Vladislav Musil, CSc.
Předseda oborové rady

UPOZORNĚNÍ:

Autor diplomové práce nesmí při vytváření diplomové práce porušit autorská práva třetích osob, zejména nesmí zasahovat nedovoleným způsobem do cizích autorských práv osobnostních a musí si být plně vědom následků porušení ustanovení § 11 a následujících autorského zákona č. 121/2000 Sb., včetně možných trestněprávních důsledků vyplývajících z ustanovení části druhé, hlavy VI. díl 4 Trestního zákoníku č.40/2009 Sb.

Licenční smlouva poskytovaná k výkonu práva užít školní dílo

uzavřená mezi smluvními stranami:

1. Pan/paní

Jméno a příjmení: Bc. Jiří Sedláček
Bytem: Brno, Fryčajova 83, 614 00
Narozen/a (datum a místo): 7. 11. 1983, Brno

(dále jen „autor“)

a

2. Vysoké učení technické v Brně

Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií
se sídlem Údolní 244/53, 602 00 Brno
jejímž jménem jedná na základě písemného pověření děkanem fakulty:
Prof. Ing. Vladislav Musil, CSc.
(dále jen „nabyvatel“)

Čl. 1 Specifikace školního díla

1. Předmětem této smlouvy je vysokoškolská kvalifikační práce (VŠKP):
- ☐ disertační práce
 - ☒ diplomová práce
 - ☐ bakalářská práce
 - ☐ jiná práce, jejíž druh je specifikován jako
- (dále jen VŠKP nebo dílo)

Název VŠKP: Biosenzor halogenovaných látek jako přístroj využívající fluorescenční metodu.
Vedoucí/ školitel VŠKP: doc. Ing. Jaromír Hubálek, Ph.D.
Ústav: Ústav mikroelektroniky
Datum obhajoby VŠKP:

VŠKP odevzdal autor nabyvateli v:

- ☒ tištěné formě – počet exemplářů 2
- ☒ elektronické formě – počet exemplářů 2

2. Autor prohlašuje, že vytvořil samostatnou vlastní tvůrčí činností dílo shora popsané a specifikované. Autor dále prohlašuje, že při zpracovávání díla se sám nedostal do rozporu s autorským zákonem a předpisy souvisejícími a že je dílo dílem původním.
3. Dílo je chráněno jako dílo dle autorského zákona v platném znění.
4. Autor potvrzuje, že listinná a elektronická verze díla je identická.

Článek 2

Udělení licenčního oprávnění

1. Autor touto smlouvou poskytuje nabyvateli oprávnění (licenci) k výkonu práva uvedené dílo nevýdělečně užít, archivovat a zpřístupnit ke studijním, výukovým a výzkumným účelům včetně pořizování výpisů, opisů a rozmnoženin.
2. Licence je poskytována celosvětově, pro celou dobu trvání autorských a majetkových práv k dílu.
3. Autor souhlasí se zveřejněním díla v databázi přístupné v mezinárodní síti
 - ☒ ihned po uzavření této smlouvy
 - ☐ 1 rok po uzavření této smlouvy
 - ☐ 3 roky po uzavření této smlouvy
 - ☐ 5 let po uzavření této smlouvy
 - ☐ 10 let po uzavření této smlouvy(z důvodu utajení v něm obsažených informací)
4. Nevýdělečné zveřejňování díla nabyvatelem v souladu s ustanovením § 47b zákona č. 111/ 1998 Sb., v platném znění, nevyžaduje licenci a nabyvatel je k němu povinen a oprávněn ze zákona.

Článek 3

Závěrečná ustanovení

1. Smlouva je sepsána ve třech vyhotoveních s platností originálu, přičemž po jednom vyhotovení obdrží autor a nabyvatel, další vyhotovení je vloženo do VŠKP.
2. Vztahy mezi smluvními stranami vzniklé a neupravené touto smlouvou se řídí autorským zákonem, občanským zákoníkem, vysokoškolským zákonem, zákonem o archivnictví, v platném znění a popř. dalšími právními předpisy.
3. Licenční smlouva byla uzavřena na základě svobodné a pravé vůle smluvních stran, s plným porozuměním jejímu textu i důsledkům, nikoliv v tísní a za nápadně nevýhodných podmínek.
4. Licenční smlouva nabývá platnosti a účinnosti dnem jejího podpisu oběma smluvními stranami.

V Brně dne: 27. 5. 2010

.....
Nabyvatel

.....
Autor

Abstrakt:

Tato diplomová práce se zabývá návrhem a konstrukcí zařízení, které má sloužit jako fluorescenční detektor halogenovaných příměsí v okolním prostředí, převážně ve vodě. K excitaci zkoumaného vzoru je použita LED dioda o vlnové délce 590 nm. Pro snímání emitovaného záření vzniklého fluorescencí je použit fotonásobič. Jako fluorescenční indikátor je použita látka 5(6)-carboxynaphthofluorescein. Práce je rozdělena do tří hlavních částí. První část pojednává o teorii nutné k realizaci zařízení. Ve druhé části je detailní popis konstrukce a funkce zařízení a třetí část se zabývá měřením konstruovaným zařízením.

Abstract:

This master thesis deals with design and construction of device for optic biosensor. The device are using for detected halogen compound in the water. For excitation testing sample is used LED diode about wave length 590 nm. Photocounter is used for detection of the emitted light after fluorescence. Such as fluorescent marker are 5(6)-carboxynaphthofluorescein. The thesis is divided into three head parts. The first part includes the theory needed for realization; the second part takes in detail description of the construction and function of the device and the last part describes measurements with the device.

Klíčová slova:

LED dioda, fotonásobič, fluorescence, biosenzor, světelné záření, optické vlákno, bioluminiscent

Keywords:

LED diode, photocounter, fluorescence, biosensor, light emitting, optic fibre, bioluminescent

Bibliografická citace díla:

SEDLÁČEK, J. *Biosenzor halogenovaných látek jako přístroj využívající fluorescenční metodu*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, 2010. 63 s. Vedoucí diplomové práce doc. Ing. Jaromír Hubálek, Ph.D.

Prohlášení autora o původnosti díla:

Prohlašuji, že svoji diplomovou práci na téma Biosenzor halogenovaných látek jako přístroj využívající fluorescenční metodu jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího semestrálního projektu a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou všechny citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce.

Jako autor uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že v souvislosti s vytvořením této diplomové práce jsem neporušil autorská práva třetích osob, zejména jsem nezasáhl nedovoleným způsobem do cizích autorských práv osobnostních a jsem si plně vědom následků porušení ustanovení § 11 a následujících autorského zákona č. 121/2000 Sb., včetně možných trestněprávních důsledků vyplývajících z ustanovení § 152 trestního zákona č. 140/1961 Sb.

V Brně dne 27. května 2010

.....
podpis autora

Poděkování

Děkuji vedoucímu diplomové práce Doc. Ing. Jaromíru Hubálkovi, Ph.D. za účinnou metodickou, pedagogickou a odbornou pomoc a další cenné rady při zpracování práce. Dále děkuji Doc. Mgr. Jiřímu Damborskému, Dr., RNDr. Zbyňkovi Prokopovi, Ph.D. a Mgr. Šárce Bidmanové z Loschmidtových laboratoří Masarykovy univerzity v Brně. V neposlední řadě děkuji Ing. Břetislavu Mikelovi, Ph.D. z Ústavu přístrojové techniky AVČR za pomoc při realizaci optické části. Práce vznikla za podpory výzkumného záměru MSM0021630503.

V Brně dne 27. května 2010

.....
podpis autora

OBSAH

ÚVOD	8
1 ROZBOR PROBLEMATIKY BIOSENZORŮ A MĚŘENÍ.....	9
1.1 POJEM BIOSENZOR	9
1.1.1 <i>Klasifikace biosenzorů podle typu poskytovaného signálu.....</i>	<i>9</i>
1.2 OPTICKÉ PŘEVODNÍKY.....	10
1.2.1 <i>Optické jevy.....</i>	<i>11</i>
1.2.2 <i>Konstrukce</i>	<i>14</i>
1.2.3 <i>Vodiče světla – Optické vlákno</i>	<i>15</i>
1.2.4 <i>Zdroje světelného záření</i>	<i>17</i>
1.2.5 <i>Detektory světelného záření</i>	<i>19</i>
1.3 FUNKCE BIOSENZORU	24
1.3.1 <i>Enzym</i>	<i>24</i>
2 PROBLEMATIKA KONSTRUKČNÍHO NÁVRHU	26
2.1 PROCESOR.....	26
2.2 KOMUNIKAČNÍ ROZHRANÍ.....	27
2.2.1 <i>Drátová rozhraní.....</i>	<i>27</i>
2.2.2 <i>Bezdrátová rozhraní</i>	<i>28</i>
2.3 NAPÁJENÍ.....	29
2.3.1 <i>Klasické napájecí zdroje</i>	<i>29</i>
2.3.2 <i>Spínané zdroje</i>	<i>30</i>
3 KONSTRUKČNÍ NÁVRH	31
3.1 ELEKTRICKÁ KONSTRUKCE	31
3.1.1 <i>Řešení.....</i>	<i>36</i>
3.2 MECHANICKÁ KONSTRUKCE.....	37
3.2.1 <i>Optická část.....</i>	<i>37</i>
3.2.2 <i>Přístrojová skříň.....</i>	<i>38</i>
4 PROGRAMOVÉ VYBAVENÍ.....	39
4.1 PROGRAM PRO MIKROKONTROLÉR.....	39
4.2 PROGRAM PRO OSOBNÍ POČÍTAČ	41
5 TESTOVACÍ MĚŘENÍ.....	44
6 ZÁVĚR.....	47
7 POUŽITÁ LITERATURA.....	48
8 POJMY Z (BIO)SENZORŮ.....	51
9 SEZNAM ZKRATEK	53
10 PŘÍLOHY	54
10.1 SEZNAM SOUČÁSTEK	54
10.2 DESKA PLOŠNÉHO SPOJE	55
10.3 FOTOGRAFIE PŘÍSTROJE	58
10.4 TECHNICKÉ VÝKRESY	60

Úvod

Při zamyšlení nad významem slova biosenzor člověka napadne, že se jedná o snímač převážně používaný v lékařství případně zemědělství. Biosenzor má ovšem široké uplatnění nejen v těchto zmíněných odvětvích, ale i v jiných oborech jako je potravinářství, farmaceutický průmysl, veterinární medicína, ochrana životního prostředí nebo zbrojní průmysl.

Za historicky první „biosenzor“ lze považovat kanárky v kleci používané v dolech. Smrt kanárka informovala o výskytu nebezpečných jedovatých plynů a tím i o nebezpečí pro člověka, který se v zamořeném prostoru pohyboval.

Vývoj na poli snímání biologických veličin je datován do počátku 20. století, kdy byly provedeny první měření pH. Objev polarografie Jaroslavem Heyrovským v roce 1922 přinesl počátek silného rozvoje elektrochemie na poli analytických metod chemických látek a později i biolátek. Konstrukce biosenzorů založených na polarografii pracovaly se rtutí a k vyhodnocování využívaly složité aparatury. Revoluci v konstrukci chemických senzorů přinesl Leland C. Clark jr. v roce 1956, který vytvořil senzor, jenž byl oddělený od měřeného prostředí. Jednalo se o senzor plynu a tím byl položen základ k dnešnímu typu biosenzorů.

Dnes biosenzory zažívají bouřlivý rozvoj. Jejich problematika je multioborová, tj. výzkumem se zabývají pracoviště specializované na chemii, biologii, elektroniku a optoelektroniku. Elektronika se využívá pro vyhodnocení a zpracování získané informace z biosenzoru [1] a [2].

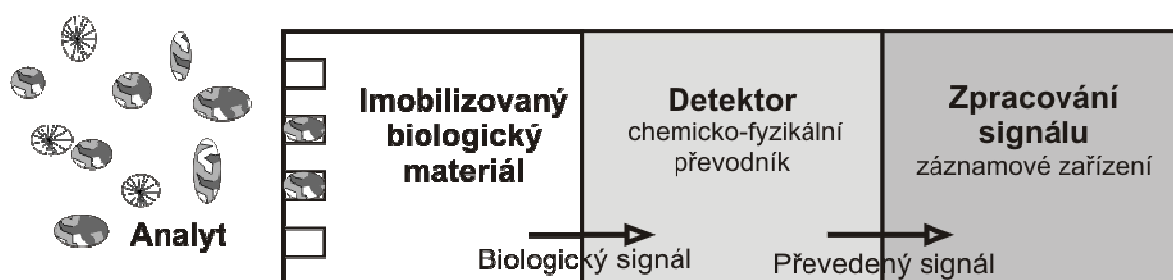
Cílem práce je návrh a konstrukce zařízení pro detekci signálu z biosenzoru pracujícího na principu fluorescenční metody, který detekuje látky jako pesticidy, rozpouštědla, toxické, rakovinotvorné a jiné nebezpečné látky ve vodě. Tento způsob je široce používán a je značně stabilní. Tyto měřené látky nejsou běžným způsobem odbouratelné a prosakují do spodních vod a tím tyto vody kontaminují a znehodnocují zdroje pitné vody.

Celá práce se skládá ze tří hlavních částí. První část pojednává o dané problematice v teoretické rovině. V druhé části je podrobně rozebraný návrh konstrukce a třetí část se zabývá funkcí konstruovaného přístroje a měřením.

1 Rozbor problematiky biosenzorů a měření

1.1 Pojem biosenzor

Definovat pojem biosenzor je značně složité. Definice říká, že se jedná o analytický přístroj obsahující citlivý prvek biologického původu, který je buď součástí, nebo v těsném kontaktu s fyzikálně-chemickým převodníkem. Poskytuje průběžný elektronický signál, který je přímo úměrný koncentraci jedné nebo několika chemických látek ve vzorku [1]. Hlavními částmi biosenzoru jsou biorekogniční část, která má za úkol styk s testovaným vzorkem a chemicko-fyzikální převodník, jenž poskytuje signál, který je možné dále zpracovat. Základní princip funkce biosenzoru je na Obr. 1, kde analyt je konkrétní látka, jejíž přítomnost ve vzorku je měřena a imobilizovaný biologický materiál (ukotvený na pevnou látku [3]) je chemická látka, která s analytem reaguje a vzniká tak biologický signál, který je následně detekován vhodným detektorem a zpracováván. Tato látka je nejčastěji enzym. Získané informace jsou vyhodnoceny.



Obr. 1: Schéma biosenzoru, převzato z [2] a upraveno

1.1.1 Klasifikace biosenzorů podle typu poskytovaného signálu

Biosenzory je možno dělit podle metody, která se používá pro získávání signálů. Dělení je podle [3].

Elektrochemické – tyto biosenzory jsou dnes nejrozšířenější. Jsou konstruovány jako nejméně dvouelektrodové (pracovní a referenční) nebo více elektrodové (pracovní, referenční a společná elektroda). Tyto senzory se používají pro ampérometrická měření, kde se pracuje s pevným napětíovým potenciálem mezi referenční a pracovní elektrodou a měří se proud, který vzniká reakcí. U voltmetrických měření se mění napětí a měří se proudová odezva. Při měřeních potenciometrických se měří změna elektrického potenciálu při reakci mezi elektrodami. Za další elektrochemické měření lze považovat konduktometrickou metodu.

U této metody se měří vodivost, která se mění v závislosti na reakci zkoumané látky v testovaném prostředí. Tyto systémy jsou poměrně snadno konstruovatelné (např. tištěné tlustovrstvé senzory) i relativně levné [3].

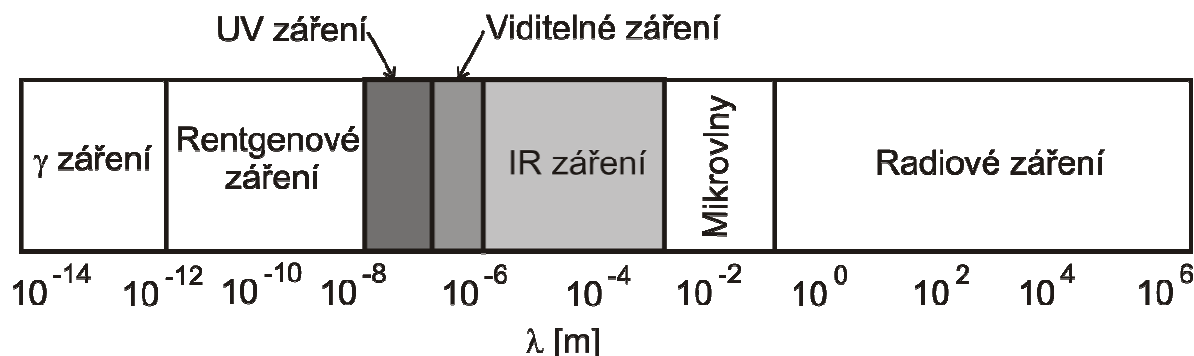
Gravimetrické (akustické a piezoelektrické) – jsou založené na změně akustického signálu. Dominantní jsou biosenzory piezoelektrické, která pracují na frekvencích (9 až 14) MHz. Měřena je změna frekvence, která nastane díky reakci zkoumané látky. Jako zdroj signálu se používá piezoelektrický krystal [3].

Teploměrné (kalorimetrové) – využívají změny teploty, která je doprovodným jevem při enzymatické reakci. Vznikající (absorbující) teplo je úměrné celkovému počtu produkovaných molekul, které vznikají biochemickou reakcí [3].

Optické – pracují na principu změny světelného záření vyvolané některou formou optického jevu, např. luminiscencí [3]. Podrobnější popis je v následujících kapitolách.

1.2 Optické převodníky

Optické převodníky pracují se světelným zářením. Lze je rozdělit na optické, kdy se mění útlum signálu, index lomu, fázové posunutí a vlnová délka je konstantní a luminiscenční, u kterých se měří intenzita vyzářená emisí spontánní nebo po excitaci vnějším zdrojem světla. Vlnová délka emise se liší od vlnové délky excitačního zdroje.



Obr. 2: Spektrum elektromagnetického záření s vyznačenou oblastí světelného záření

Optické metody jsou založeny na principu snímání elektromagnetického záření ve spektru světelného záření, tj. od ultrafialové oblasti přes oblast viditelného světla až po infračervené záření. Základem je interakce světelného záření s chemickými látkami. Nejčastěji využívanou optickou technikou je fluorescence a luminiscence. Méně často se využívá absorpce [1]. V elektromagnetickém spektru se pohybujeme v oblasti světla, tj. na

vlnových délkách 3 μm až 10 nm. Na Obr. 2 je vidět část elektromagnetického spektra. Šedě vyznačené oblasti jsou oblasti světelného záření.

Jako detektory světelného záření jsou používány fotonásobiče, lavinové fotodiody a obyčejné fotodiody, nebo fotorezistory, fototranzistory či nábojově vázané snímače (CCD).

Pro zdroj světla, který má vyvolat potřebnou reakci, se používají lasery, diody LED, UV výbojky a lampy. Žárovky nejsou vhodné hlavně pro jejich široké spektrum vyzařovaných elektromagnetických vln.

Pro přenos světla od zdroje k měřené látce se používá optických světlovodů, převážně pak optických vláken, na jejichž čelo je nanесena aktivní látka, která reaguje s chemickou látkou, obsaženou ve zkoumaném roztoku.

1.2.1 Optické jevy

V biosenzorice je výhodné použít optických metod, protože není nezbytně nutný styk senzoru s měřenou látkou a tím je umožněno relativně rychlé měření bez nutnosti omývat, či měnit senzor při změně měřené látky. Měření je založeno na několika optických jevech. Často používané jsou metody založené na emisi světla – luminiscenci nebo absorpční metody.

$$E = h\nu = h\frac{c}{\lambda} \quad (1)$$

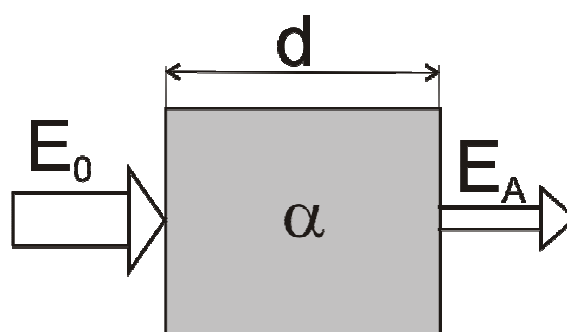
V textu a na obrázcích je používán vztah (1), který vyjadřuje vztah energie fotonu na jeho vlnové délce resp. frekvenci, kde E je energie fotonu [eV], h Planckova konstanta ($6,626 \cdot 10^{-34}$ J.s), ν je frekvence záření [Hz], λ je vlnová délka [m] a c je rychlost světla ve vakuu ($3 \cdot 10^8$ m.s⁻¹).

Absorpce

Absorpce světla je pokles intenzity světelného paprsku průchodem látkou. Je definována jako počet fotonů za čas. V biosenzorech se využívá měření intenzity světla po průchodu měřenou látkou. Tuto vlastnost popisuje Lambertův – Beerův zákon (2),

$$E_A = E_0 \cdot e^{-\alpha d} \quad (2)$$

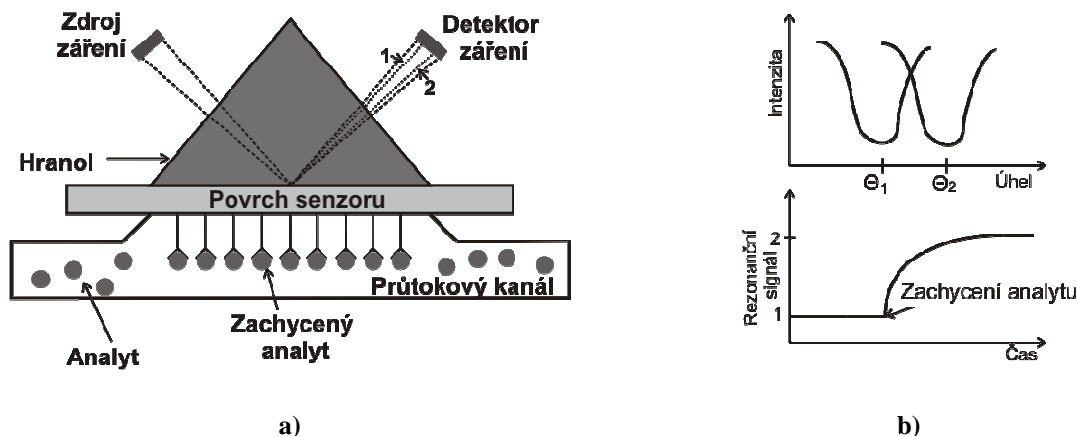
kde E_A je energie světelného paprsku po průchodu měřeným prostředím, E_0 je energie záření na vstupu, d je tloušťka prostředí, kterým paprsek prochází a α je absorpční koeficient, který je materiálově závislý [1]. Schématické zobrazení absorpce světla je na Obr. 3.



Obr. 3: Princip absorpce světla, převzato z [1] a upraveno

SPR metoda

Metoda SPR je založena na přímém optickém snímání. Světlo vstupující do zařízení je zaměřeno přímo směrem k snímanému povrchu a poté co na něj dopadne je odraženo zpět. Světlo, které vystoupí ze senzoru je snímáno a nese informaci o fyzikální události, která nastala na snímaném povrchu [3]. Princip metody SPR je nakreslen na Obr. 4.



Obr. 4: Princip SPR metody a), průběh signálu b). Převzato z [4]a upraveno.

Luminiscence

Luminiscence je spontánní záření pevných nebo kapalných látek, které vzniká jako přebytek záření tělesa nad úroveň jeho tepelného záření v dané spektrální oblasti při dané teplotě, přičemž toto záření má určitou dobu doznívání, tedy trvá i po skončení budícího účinku. Intenzita vyzařovaného světla je závislá na čase a v určitém okamžiku prochází maximem.

Lze také říci, že luminiscence je děj, při němž záření o kratší vlnové délce (větší frekvenci) vyvolává v látce určitého složení vznik záření o delší vlnové délce (nižší frekvenci).

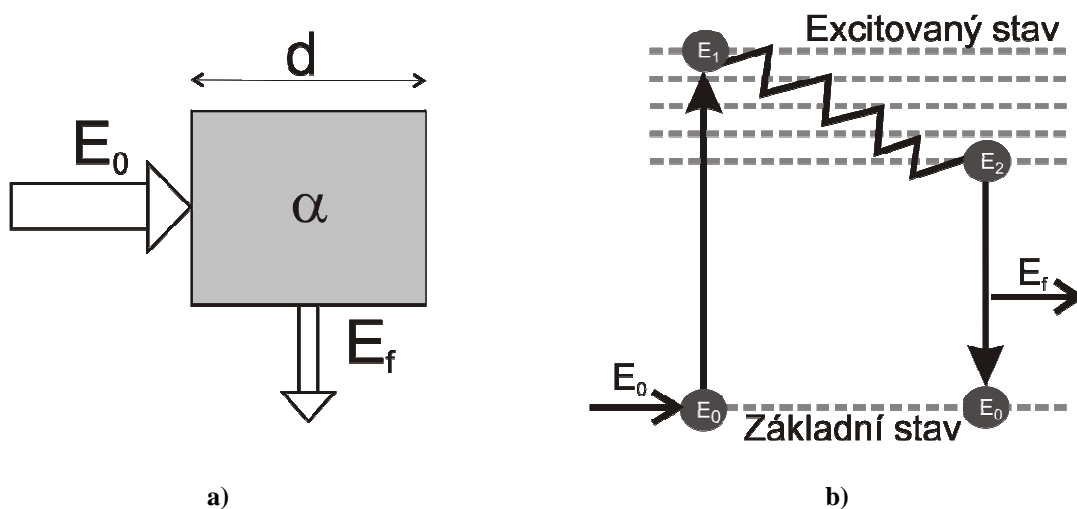
Luminiscenci lze rozdělit na několik typů, a to podle energie, která ji vybudila [3]:

- Světelnou – fotoluminiscence (fluorescence, fosforescence),
- Chemickou – chemoluminiscence, bioluminiscence,
- Tepelnou – termoluminiscence,
- Akustickou – sonoluminiscence,
- Mechanickou – mechanoluminiscence,
- Elektrickou – elektroluminiscence,
- Radioluminiscence – vyvolání ionizovaným zářením,
- Krystaloluminiscence – vzniká při krystalizaci látek.

Dále je v textu popsána pouze fotoluminiscence, protože ostatní luminiscenční jevy nejsou pro konstrukci vyvíjeného přístroje nezbytné.

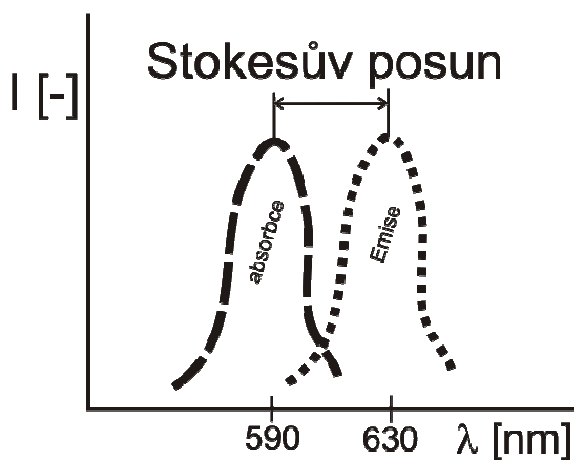
Fotoluminiscence

Fluorescence je přeměna části zářivé energie, kterou pohltila exponovaná měřená látka, na nové záření o jiné vlnové délce. Přeměna trvá krátkou dobu, řádově 10^{-8} až 10^{-5} s. Na rozdíl od fosforescence, kde vyzařování sekundárního záření trvá od 10^{-2} s až po několik dní. V biosenzorech se často využívá fluorescence. Princip měření pomocí fluorescence je na Obr. 5 a. Obr. 5 b znázorňuje fluorescenci na úrovni energetických hladin. I_0 je budící záření, jenž vybudí elektron E_0 , který díky dodané energii vstoupá do excitovaného stavu E_1 a poté samovolně sestupuje zpět na základní (klidovou) úroveň. Při přechodu ze stavu E_2 do klidového stavu E_0 , je vyzářena nová světelná energie o delší vlnové délce I_f . Přechod mezi stavy E_1 a E_2 je doprovázen ztrátou energie bez emise světla.



Obr. 5: Princip fluorescenční metody a) – převzato z [1], fluorescence na úrovni energetických hladin b)

Platí zde Stokesovo pravidlo (viz Obr. 6), někdy je v literatuře nazýváno jako Stokesův posun, které říká, že vybuzené záření má vždy delší vlnovou délku než budící záření [6].



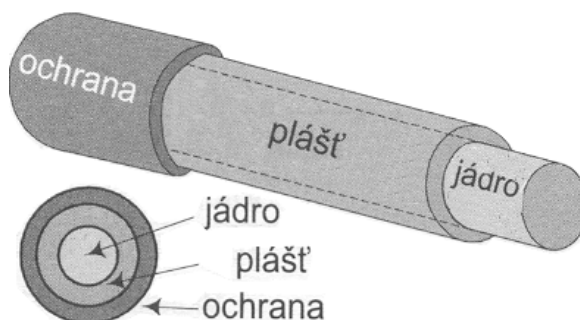
Obr. 6: Stokesův posun, λ – vlnová délka, I – intenzita elektromagnetické vlny

1.2.2 Konstrukce

Celé uspořádání musí obsahovat zdroj světla, obvykle laser nebo LED, optické prostředí, kterým se světlo šíří (obvykle optické vlákno) a detektor (fotonásobič, polovodičová fotodioda s násobičem nebo fototranzistor).

1.2.3 Vodiče světla – Optické vlákno

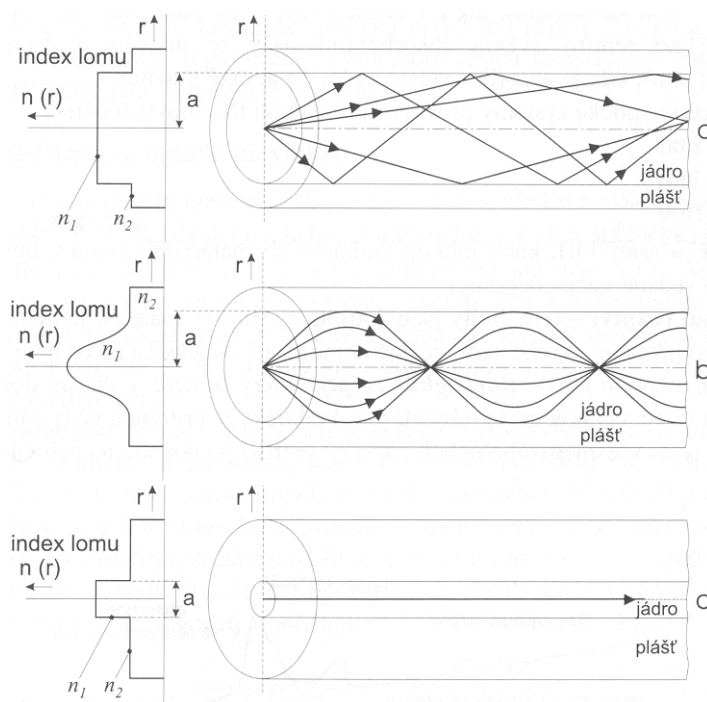
Pro konstrukci optických biosenzorů je vhodné použít optická vlákna (pro přenos světla od vzorku a ke vzorku). Optická vlákna se vyrábějí z velmi čistého křemičitého skla (SiO_2) nebo z polykarbonátu (plastová vlákna). Dále to mohou být světlovody s kapalinovým jádrem, kde pro přenos světla slouží kapalina a umožňují přenos UV paprsků a velký světelný výkon. Plastová vlákna mají mnohonásobně větší útlum než vlákna vyráběná ze skla, proto je vhodné je využívat na krátké vzdálenosti, kde útlum není kritickým parametrem. Průřez optickým vláknem je na Obr. 7.



Obr. 7: Optické vlákno, převzato z [7], upraveno

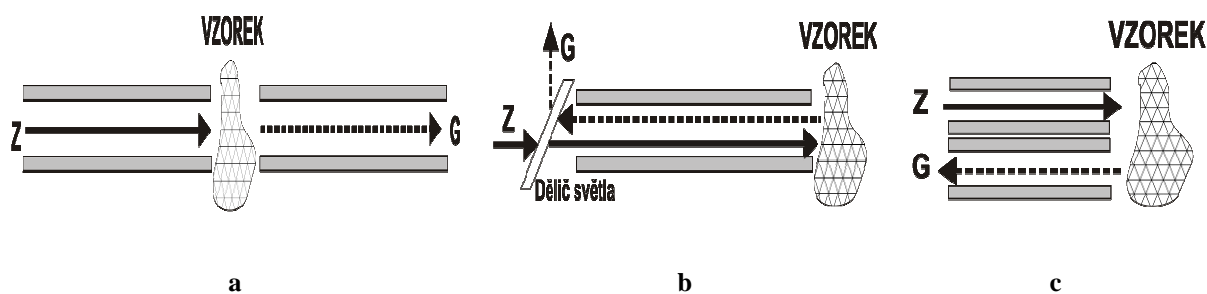
Optické vlákno se skládá z jádra, ve kterém je přenášena světelná informace, dále pak z pláště, který zabezpečuje správnou funkci jádra a slouží jako jeho primární ochrana a vnějšího ochranného pláště. Vnější ochranný plášť zabezpečuje hlavní ochranu optického vlákna a umožňuje ohyb. Index lomu jádra je větší než index lomu pláště.

Vlákna, Obr. 8, se dělí na mnohovidová (a, b) a jednovidová (c). Mnohovidová se ještě dělí na vlákna se skokovou změnou indexu lomu (a) a s postupnou změnou indexu lomu, tzv. gradientní (b), kde mají všechny vidy stejnou dobu průchodu vláknem. Jednovidová vlákna přenášejí jen jeden paprsek a jsou vhodná převážně pro telekomunikační účely. Mnohovidové světlovody přenášejí více vidů (paprsků), taktéž se používají pro telekomunikační účely, ale využití nacházejí i v senzorice.



Obr. 8: Typy optických vláken podle průběhu světla a) mnohovidové se skokovou změnou indexu lomu, b) gradientní, c) jednovidové. Převzato z [8].

Optická vlákna se pro měření konfigurují do různých zapojení. Základní principy jsou na Obr. 9. Na všech obrázcích je písmenem Z označen zdroj záření a G symbolizuje testovaným vzorkem generovaný světelný tok.



Obr. 9: Konfigurace optických vláken pro měření a) absorpce, b) použití jednoho vlákna, c) použití dvou vláken

Na Obr. 9a je zobrazena konfigurace vhodná převážně pro měření absorpce zkoumané látky.

Konfigurace na Obr. 9b využívá jedno vlákno pro vstupní paprsek a stejné pro výstupní světelný tok. Na vstupu, resp. výstupu, je umístěn dělič světla, který zabezpečí prostup pouze

světlu o dané vlnové délce, pro kterou je uzpůsoben. Dalo by se také říci, že dělič světla je pásmová propust pracující na optických kmitočtech. Jedná se o skleněnou destičku s nanesenou speciální vrstvou, která propustí jen záření požadované vlnové délky. Tato konfigurace se využívá např. u metody měření fluorescence.

Na Obr. 9c je využito dvou světlovodů. Jedno vlákno slouží k vedení emisního světla a druhé jako vodič excitovaného světla.

1.2.4 Zdroje světelného záření

LED dioda

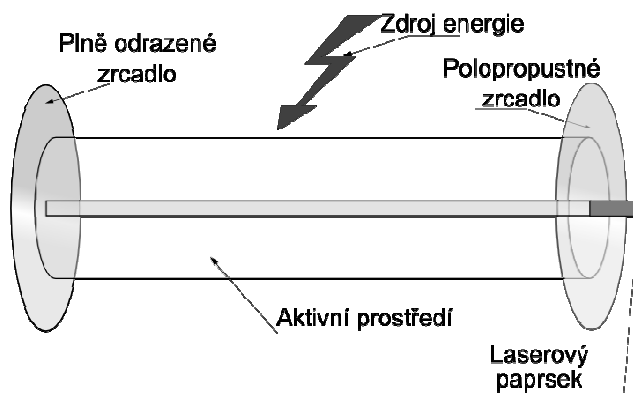
Luminiscenční dioda funguje na principu elektroluminiscence, kdy je PN přechodem vyzařováno optické záření. K tomu dochází po přiložení napětí na PN přechod a následné rekombinaci elektronů s děrami. Rekombinace je pochod, při kterém elektron z vodivostního pásu obsadí volnou energetickou hladinu v pásu valenčním a přitom odevzdá energii přibližně rovnou šířce zakázaného pásu, která je vyzařena ve formě fotonů mimo krystal (u LED) nebo tepelného záření (dojde k zahřátí krystalu). Čím vyšší je šířka zakázaného pásu, tím větší je pravděpodobnost zářivé rekombinace [7]. Materiály, které se používají pro výrobu LED diod, jsou sloučeniny prvků III. a V. skupiny periodické soustavy prvků např. galium arsenid (GaAs), galium fosfit (GaP) nebo karbid křemíku (SiC). Volba použitého materiálu má přímý vliv na vlnovou délku emitovaného záření (na barvě). Různé barvy se docílí určitým poměrem složek materiálu ve sloučenině. Barva LED diody se také projeví na její voltampérové charakteristice. Nejstrmější průběh mají infračervené diody (nejmenší napětí) až k pozvolnému nárůstu u bílých luminiscenčních diod.

Dalším parametrem luminiscenčních diod je jejich svítivost a vyzařovací úhel. Svítivost je závislá na protékajícím proudu a pohybuje se od 1 až po 1000 mcd u běžných diod. Dnes se vyrábějí i tzv. vysocesvítivé diody, kde se svítivost pohybuje až v desítkách Candelů [9]. Vliv na ni má též provedení pouzdra, typ přechodu a použitý materiál. Vyzařovací charakteristika vyjadřuje, jak se v závislosti na odchylce od osy diody mění relativní svítivost diody. LED dioda nevyzařuje světlo o jedné vlnové délce (není monochromatická), ale její spektrum se pohybuje v okolí dominantní vlnové délky (největší intenzita záření), běžný rozptyl $\Delta\lambda$ je okolo 20 nm. Vhodná volba vyzařované vlnové délky je důležitým parametrem při návrhu zařízení vzhledem k používanému luminoforu u biosenzoru. Napájení diod je vhodné provozovat ze zdroje konstantního proudu, tím je zajištěna stabilita záření, svítivost a teplotní nezávislost obvodu s diodou. Také je potřeba zabezpečit, aby se nemohlo v závěrném směru na svorkách diody objevit velké napětí, protože luminiscenční diody nemají tak velké závěrné

napětí jako diody obyčejné a došlo by k průrazu PN přechodu v závěrném směru a k jeho zničení.

Laser

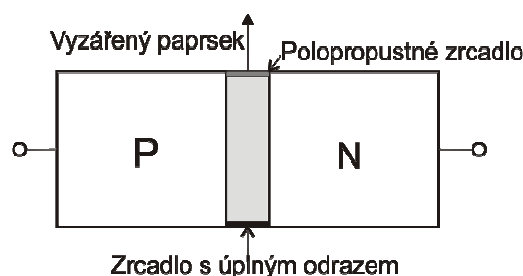
Laser je zařízení určené pro generování monochromatického (jednobarevného), koherentního (zachování fáze a směru v čase, tj. fotony se pohybují jedním směrem a jsou velmi rovnoměrně rozmístěny [7]) záření s malou divergencí (rozbíhavostí). Ke generování světelného záření se využívá simulovaná emise optického záření. Dopadá-li do soustavy na atom kvantum energie rovno energetickému rozdílu energetických hladin a je-li přitom atom na vyšší energetické hladině, dopadající kvantum se nepohltí, ale vzniknou dvě kvanta světelné energie [7]. Konstrukcí laserů je celá řada. Lasery se dělí na pevnolátkové, plynové a polovodičové. Ve všech konstrukcích je princip generace stejný. Koherence záření se dosahuje použitím optického rezonátoru. Ten zajistí zesílení elektromagnetické vlny na daném kmitočtu a s danou fází a vznikne tak stojaté vlnění. Rezonátor je nejčastěji dvojice zrcadel, ze kterých jedno je plně odrazivé a druhé polopropustné. Ze strany polopropustného zrcadla poté vystupuje paprsek. Pro rezonátory se používají dielektrické materiály, případně leštěný kov. Kvalita koherence závisí na kvalitě rezonátoru. Díky koherenci je vyzářený světelný paprsek velmi úzký, typicky je $\Delta\lambda$ okolo 1 nm. Princip fungování laseru je na Obr. 10, zdroj energie slouží k vyvolání stimulované emise (dodá energii). Jako aktivní prostředí se používá látka, která obsahuje oddělené energetické hladiny. Podle aktivní látky se také určuje typ laseru. Každá konstrukce (typ rezonátoru, použité aktivní prostředí) laseru generuje světlo o jiné vlnové délce.



Obr. 10: Princip laseru, převzato z [10] a upraveno

Polovodičový laser, Obr. 11, používá ke generování záření přechod PN. Různé konstrukce, jako např. laserové diody VCSEL, umožňují generovat užší paprsek a různou intenzitu. Laserové diody vyžadují věnovat velkou pozornost návrhu napájecích obvodů.

Stejně jako u LED diod je vhodné použít zdroj konstantního proudu, protože při překročení povolené meze proudu diodou dojde k jejímu okamžitému zničení. Dále je nutná ochrana proti přepólování. Laserová dioda může pracovat ve dvou režimech. Kontinuálním, kdy je napětí připojeno trvale a pulzní režim, kdy proud diodou protéká pouze v době trvání pulzu napájecího napětí. Tento provoz umožňuje provozovat laser na větší výkony.



Obr. 11: Princip polovodičového laseru

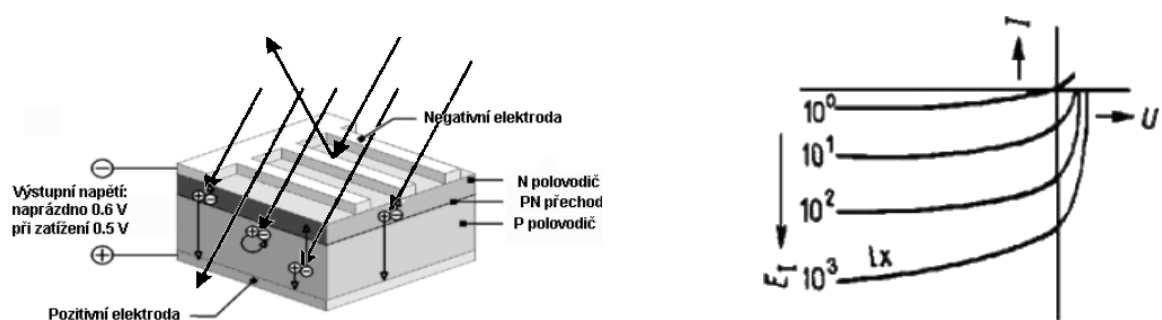
Pro oblast ultrafialového záření se používají také diody LED, které emitují toto záření, nebo UV výbojky. UV výbojky jsou plynem plněné trubice, kde hoří výboj.

1.2.5 Detektory světelného záření

Fotodioda

Princip fotodiody je založen na vnitřním fotovoltickém jevu. Díky vnitřnímu elektrickému poli v okolí PN přechodu jsou nosiče náboje (elektrony a díry), které vznikly působením optického záření v ochuzené vrstvě přechodu, přeneseny do oblasti N, resp. do oblasti P a tím vznikne na každé straně PN přechodu náboj, který se na vývodech detekuje. Důležité je převést náboj vzniklý díky optickému záření na elektrody dříve než jeho nosiče zrekombinují. Generované nosiče mají omezenou dobu života. Pravděpodobnost, že se nosiče dostanou do ochuzené vrstvy, je závislá na místě, ve kterém došlo k jejich vybuzení. Příčinou tohoto jevu je závislost citlivosti na vlnové délce dopadajícího záření [7].

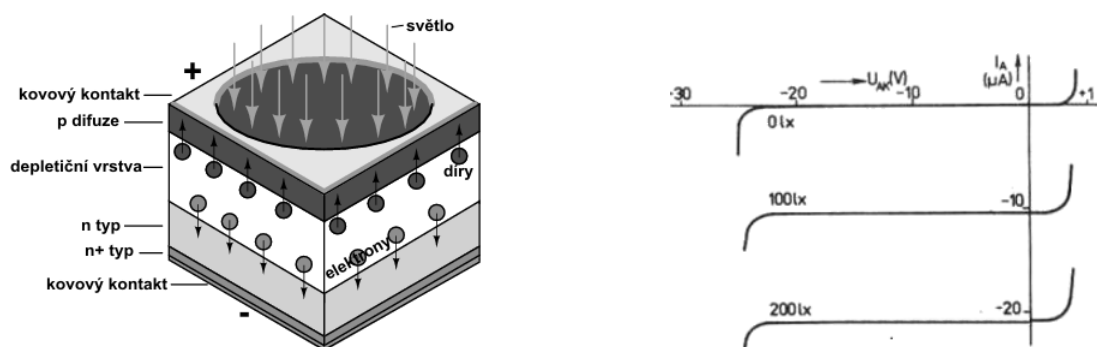
Fotodioda je polovodičový detektor optického záření. Vhodnou konstrukcí je umožněn dopad fotonů na přechod PN. Dioda pracuje buď ve fotovoltickém (hradlovém) režimu, tj. ve IV. kvadrantu voltampérové charakteristiky, kde se dioda chová jako zdroj napětí, nebo ve III. kvadrantu, tzv. fotovodivostním (odporovém) režimu, kdy se dioda chová jako spotřebič. Při zapojení do fotovoltického režimu se dodává proud úměrný osvětlení rovnou do zátěže. Pokud fotodioda pracuje v odporovém režimu, je pomocí rezistorů snímán proud při konstantním napětí připojeném v závěrném směru. Obr. 12 ukazuje řez fotodiodou a její voltampérovou charakteristiku.



Obr. 12: Princip fotodiody (vlevo) a její voltampérová charakteristika (vpravo). Převzato z [11].

Každá dioda má optické charakteristiky, podle kterých se vybírá pro použití v aplikaci. Důležitým parametrem je citlivost, která se udává jako poměr výstupního proudu na přijímané světelné energii. Citlivost na spektrum záření je dána použitým typem materiálu, např. křemík má největší citlivost pro oblast červené a infračervené. Další optickou charakteristikou je úhel, pod kterým může dopadat světelné záření.

Nevýhody jednoduchého přechodu PN, spočívající v malé aktivní oblasti detekce záření (ochuzená vrstva), se odstranily konstrukcí fotodiody PIN, ve které je šířka ochuzené vrstvy měněna podle potřeby. Tato konstrukce ovšem znemožňuje detekovat velmi malé intenzity záření kvůli tomu, že dopadající foton může generovat pouze jeden pár elektron – díra. Tento nedostatek odstraňuje lavinová fotodioda (APD). Princip a VA charakteristika je vyobrazena na Obr. 13.



Obr. 13: Princip lavinové fotodiody [12] (upraveno) a její voltampérová charakteristika [13] (upraveno)

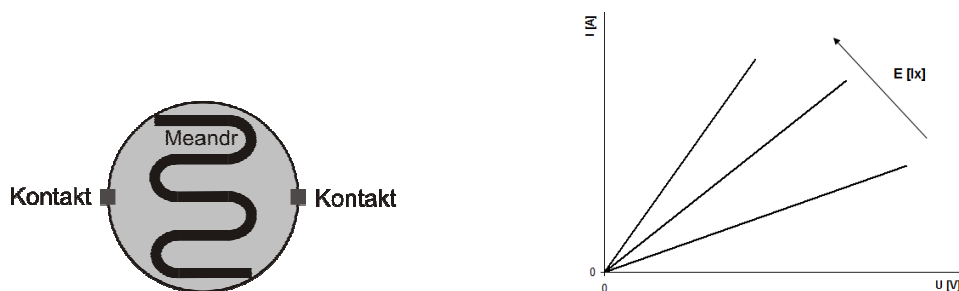
Lavinová fotodioda pracuje jako jiné fotodiody na principu generace páru elektron – díra dopadajícím fotonem světelného záření, ale na lavinovou fotodiodu je v závěrném směru připojeno velké napětí (~ 100 V), které vytváří uvnitř struktury silné elektrické pole. Toto elektrické pole způsobí velké zrychlení nosičů náboje, které generují dopadající fotony. Díky rychlému pohybu dochází ke srážkám s atomy krystalové mřížky a zapříčinění vyražení

dalších, sekundárních, elektronů. Vzniklé sekundární elektrony se také urychlí a vyrazí další elektrony a tím dochází k zesílení elektrického náboje na svorkách diody.

Fotorezistor

Fotorezistor je pasivní elektronická součástka, u které se zvyšující se intenzitou dopadajícího světla klesá její odpor a tím se zvětšuje její vodivost. Funkčnost je založena na vnitřním fotoelektrickém jevu, kdy dopadající foton naráží do valenčního elektronu a předá mu svou energii ($h\nu$). Elektron tak má dostatek energie k překonání zakázaného pásu a přesouvá se do pásu vodivostního. Díky více elektronům ve vodivostním pásu se také zvyšuje vodivost celé struktury (klesá odpor). Obrázek struktury a typická VA charakteristika je na Obr. 14.

Fotorezistory se vyrábějí z polovodivých materiálů, nejčastěji sloučenin kadmia např. CdS napařených na keramickou destičku jako podkladový materiál ve tvaru meandru nebo hřebínkové struktury pro zvýšení detekovatelné plochy. Typ použitého materiálu určuje oblast použití pro viditelnou oblast. Detekovat lze oblast infračerveného, přes viditelné až po ultrafialové záření.



Obr. 14: Náčrtek aktivní strany fotorezistoru a jeho voltampérové charakteristika

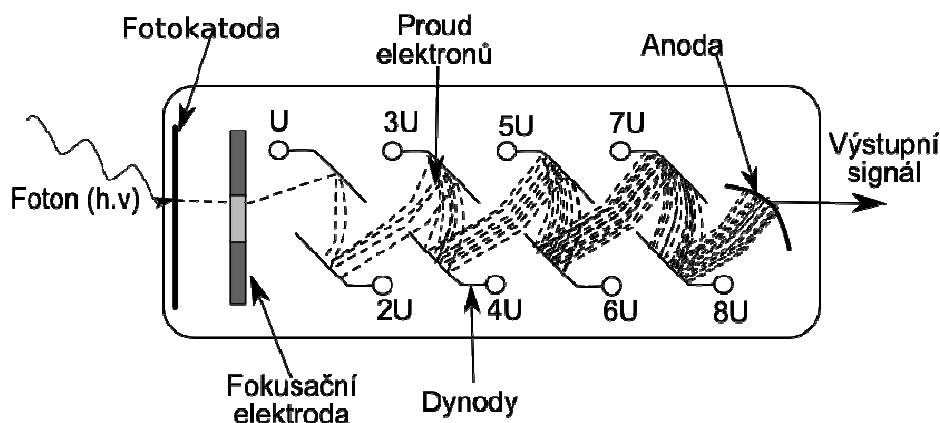
Výhodou je snadná dostupnost, široké detekovatelné spektrum, jednoduché zapojení. Nevýhodou je značná teplotní závislost a dlouhá doba odezvy. Ta znemožňuje detekovat rychle jevy jako je fluorescence.

Fototranzistor

Fototranzistor je také polovodičová součástka. Jedná se o klasický tranzistor, který je místo proudem do báze řízen osvětlením. Součástka jako taková má pouze dva vývody (kolektor a emitor). Princip funkce je totožný s fotodiodou, jedná se též o přechod PN, na který dopadá světlo.

Fotonásobič

Fotonásobič je zařízení, které umí detekovat jednotlivé fotony a tím i velmi malou intenzitu elektromagnetického záření a zesílí ho na měřitelnou úroveň. Princip fotonásobiče je na Obr. 15. Dopadající foton je zachycen fotokatodou a vzniká elektron. Ten je pomocí fokusační elektrody zaostřen na systém dynod. Dynody jsou elektrody, kde každá následující má vyšší kladný potenciál. Dopad elektronů na povrch dynody vyvolá sekundární emisi elektronů. Vzniklé elektrony jsou dále přitaženy k další dynodě, která má větší potenciál než předešlá. Tato cesta pokračuje, až k anodě, kde se pomocí vhodného snímače měří elektrický proud. Celý tento proces trvá řádově nanosekundy. Proto je fotonásobič schopen detekovat fotony, které mezi sebou mají takto malý časový rozestup (nanosekundy) [14].



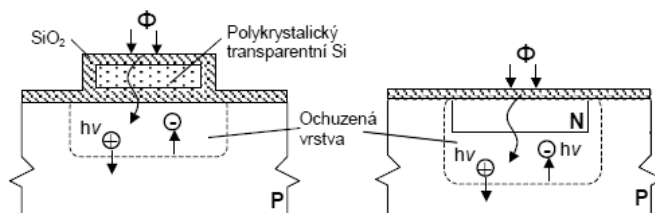
Obr. 15: Princip fotonásobiče, převzato z [15] a upraveno, částečně podle [14]

Fotonásobič se vyrábí jako vakuová součástka. Velkou výhodou je možná detekce velmi malých světelných toků, nevýhodou je potřeba vysokého napětí, řádově 1000 V. Vykytují se také tzv. čítače fotonů, ve kterých je již fotonásobič včetně zdroje vysokého napětí a vyhodnocovací elektroniky anodového proudu namontován a uživatel připojí pouze zdroj nízkého napětí a vhodnou elektroniku pro zpracování výstupního signálu, který je nejčastěji číslicový.

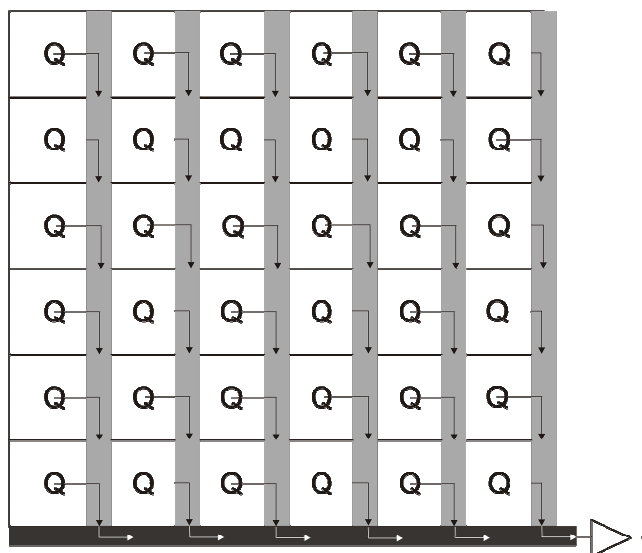
Nábojově vázaný snímač

Nábojově vázaný snímač je znám pod označením CCD. Princip funkce je obdobný jako u fotodiody. Po dopadu světelného záření vznikne v každé buňce snímače elektrický náboj, který odpovídá intenzitě dopadajícího elektromagnetického záření. Velikost nábojů v jednotlivých buňkách odpovídá rozložení optického záření snímané scény [7]. CCD snímač dokáže posouvat náboj (Q) z jedné buňky do druhé, viz Obr. 17. Jednotlivé buňky jsou uspořádány do matice. Náboj je nejprve přesunut vertikálně až na okraj matice a poté

horizontálně po sběrnici do převodníku na napěťový signál, který je potom možné měřit nebo v AD převodníku převést na signál digitální a uložit do paměti. Možné provedení jedné buňky CCD snímače je na Obr. 16.



Obr. 16: CCD buňka založena na CMOS technologii a na PN přechodu. Převzato z [11]



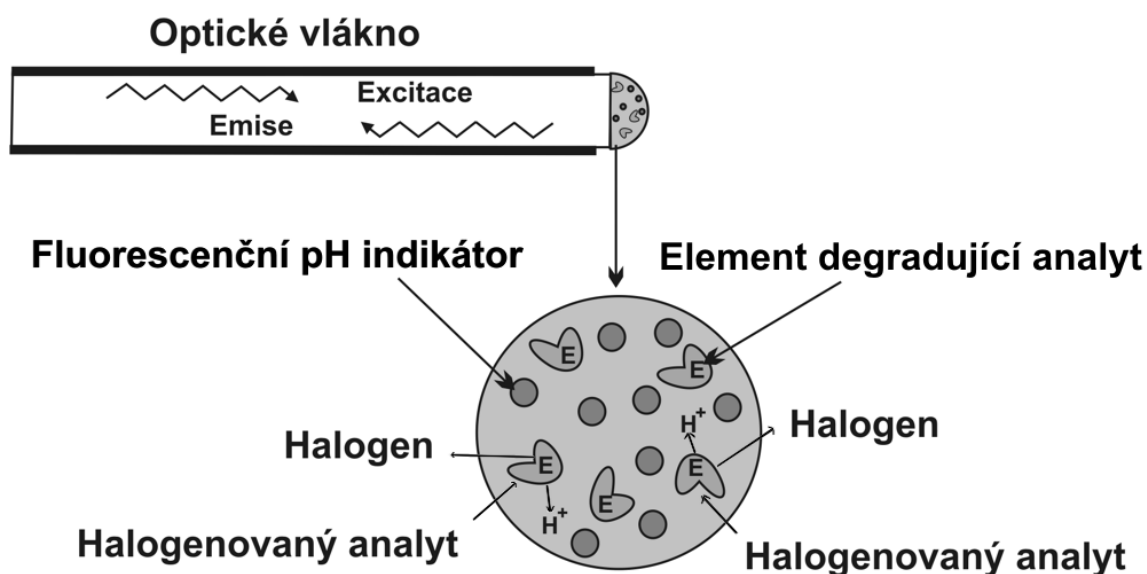
Obr. 17: Princip CCD snímače. Převzato z [7], upraveno

Snímač snímá pouze intenzitu dopadajícího záření. Proto je výsledný barevný obraz složen pomocí filtru složeného ze tří základních barev (RGB). Filtry se vkládají před buňku a je snímána intenzita světla, která prošla přes barevný filtr.

Další optoelektronické součástky jako je fototyristor, fototriak či optron nejsou vhodné pro detekci světelného záření. Tyto součástky se používají pro spínání, resp. galvanické oddělení.

1.3 Funkce biosenzoru

Biosenzor, který má fungovat s vyvíjeným zařízením, pracuje na principu reakce zkoumané látky s protilátkou. Díky tomuto procesu vznikají změny, které jsou detekovány. Enzym jako protilátka je pevně spojen s technickou částí, v tomto případě s optickým vláknem. Tomuto způsobu napojení se říká imobilizace. Neimobilizovaná protilátka (fluorescenční pH indikátor) zachycuje měřenou látku a dochází ke změně pH. Tato změna vyvolá změnu, resp. generaci světelného záření o určité vlnové délce. Detailní zobrazení konstrukce vlákna je na Obr. 18. Jako fluorescenční pH indikátor je použita látka 5(6)-carboxynaphthofluorescein.



Obr. 18: Detail konstrukce optického vlákna s nanesenou aktivní látkou. Převzato z [3].

1.3.1 Enzym

Enzymy se řadí mezi bílkoviny a jsou katalyzátory (urychlovače) chemických reakcí. Enzymů je velké množství a dělí se do šesti hlavních skupin. Tyto skupiny jsou [16]:

- I. Oxidoreduktasy: urychlují přenos vodíku, elektronů anebo reakce s kyslíkem
- II. Transferasy: urychlují přenos funkčních skupin
- III. Hydrolasy: urychlují vodíkové štěpení vazeb
- IV. Lyasy: urychlují štěpení nevodíkových a neoxidových (C-C, C-O, C-N) vazeb
- V. Isomerasy: urychlují změny uvnitř jedné molekuly
- VI. Ligasy (synthetasy): urychlují slučování spojené se štěpením

Jsou-li enzymy přítomny v reakci, je pro probíhající reakce potřeba menší aktivační energie než pokud by enzym nebyl přítomen. V důsledku toho dojde k urychlení reakce. Enzym neovlivňuje výsledný produkt reakce. Díky tomu je pro probíhající reakce potřeba daleko menší teplota a tlak. Rovnice (3) ukazuje zjednodušenou reakční rovnici.



Na aktivitu enzymu mají největší vliv teplota, pH prostředí, kde reakce probíhá a látky okolního prostředí. Teplota má zásadní vliv na reakci. S teplotou reakční schopnost stoupá, ale jen do určitého bodu (tzv. tepelného optima) a poté se vzrůstající teplotou aktivita klesá, vlivem tepelné denaturace enzymu. Denaturace je podstatná změna prostorového uspořádání molekuly, při níž dochází ke ztrátě její biologické funkce [17]. Hodnota pH prostředí má také podobný průběh se vzrůstající hodnotou pH dochází ke zvyšování aktivity enzymu až do určité hodnoty pH (tzv. pH-optimum). Po překročení tohoto bodu dochází k poklesu aktivity. Každý enzym má specifickou hodnotu pH-optima a tepelného optima a tím je určena jeho použitelnost [16].

2 Problematika konstrukčního návrhu

Vzhledem k tomu, že základním úkolem této práce je konstrukce funkčního vzorku analyzátoru pro optický senzor, je důležité věnovat zvýšenou pozornost konstrukčnímu návrhu. Vhodná volba jednotlivých komponent je důležitá pro další použití.

2.1 Procesor

Jako řídicí jádro aplikace je nevhodnější použít mikrokontrolér (MCU), který umožňuje vhodně řídit aplikaci a zabezpečovat komunikaci s okolím.

Mikrokontrolér, někdy nazývaný jako jednočipový počítač, se od klasického procesoru odlišuje tím, že kromě samotného procesoru má kolem jádra integrovány periferie a další funkce, jako je paměť, oscilátor, analogově-digitální a digitálně-analogové převodníky nebo výstupy s pulzně-šířkovou modulací (PWM) či jiné periferie.

Mikrokontroléry můžeme dělit podle více kritérií. V první řadě podle použité architektury na mikropočítače s architekturou Von Neumannovou nebo Harvardskou. V dnešní době se pro zpracování signálů převážně využívá Harvardská architektura, která se vyznačuje oddělením paměti programu od paměti zpracovávaných dat (DSP procesory). Další možné dělení je podle použitého typu instrukčního souboru. Běžně používané jsou úplný instrukční soubor (CISC) a redukovaný instrukční soubor (RISC). Soubor typu RISC se vyznačuje tím, že zpracovává více jednoduchých instrukcí než jednu složitou, jak je tomu u instrukčního souboru CISC, čímž dosahuje rychlejšího zpracování dat [18].

Mikrokontroléry lze také rozlišovat podle velikosti zpracovávaného binárního slova a to na 8 bitové, 16 či 32 bitové MCU. Tato vlastnost vypovídá o tom, jak velké binární slovo je mikrokontrolér schopen najednou zpracovat. Nezbytnou informací pro výběr je čas potřebný na jednu instrukci. Dále pak je důležitým prvkem při výběru velikost a typ paměti, počet vstupů a výstupů, typ a počet AD a DA převodníků. Další významnou vlastností je počet vývodů (pinů).

U analogově-digitálního převodníku je hlavním kritériem s jakou chybou převodník převádí v jednotkách LSB. U DA převodníku je nejdůležitější, jaké jsou výstupní parametry a chyby převodu a také linearita výstupu, případně jaká je maximální napěťová úroveň.

Dalším, i když nikoliv tak důležitým parametrem (z hlediska funkčnosti), je systém programování a dostupnost softwarového vybavení, jako je vlastní programovací prostředí

a další ladící prostředky, či typ pouzdra, ve kterém je jednočipový počítač proveden, případně jaká je napěťová úroveň, kterou využívá na výstupech.

Konkrétní parametry mikrokontroléru, který byl využit v konstruované aplikaci, jsou popsány v kapitole 3.

2.2 Komunikační rozhraní

Komunikační rozhraní je jeden z pilířů celé konstrukce, protože nasnímané informace je nutné dále zpracovávat. Nejvhodnější volbou je použít osobní počítač. Jako komunikační rozhraní pro osobní počítač je možné volit z mnoha typu rozhraní. Základní dělení lze určit na drátové (kabelové) a bezdrátové (rádiové). Níže uvedený výčet rozhraní zahrnuje jen nejznámější a nejrozšířenější rozhraní.

2.2.1 Drátové rozhraní

Drátové rozhraní jsou rozhraní, která pro svoji komunikaci využívají určitého počtu vodičů. Mezi nejznámější patří rozhraní sériové (RS232), paralelní (LPT), USB, FireWire. Drátové rozhraní má výhodu v tom, že není nutné do osobního počítače instalovat další komunikační vybavení (vysílač/přijímač), protože většina počítačů je dnes vybavena nějakým drátovým komunikačním portem, nejčastěji USB. Další výhodou je spolehlivé spojení. Nevýhodou je pevné svázání počítače se zařízením

USB

USB – univerzální sériová sběrnice je dnes asi nejrozšířenější drátové rozhraní. Tímto rozhraním jsou vybaveny veškeré osobní počítače. Toto rozhraní se dá považovat za nástupce klasické sériové sběrnice RS232. Jedná se o čtyřvodičovou sběrnici, kde se ke komunikaci využívají dva vodiče, a zbylý pár vodičů může sloužit pro napájení připojených zařízení. Napájecí napětí je 5 V a proud, jenž je možný odebírat se sběrnice je podle specifikace až 500 mA [19].

Sériové rozhraní

Standardní sériové rozhraní (RS232) je starší typ komunikační linky. Jak již z názvu vyplývá, komunikace probíhá sériově, tj. data (jednotlivé bity) jsou vysílána za sebou. V dnešní době je tato linka na ústupu [20].

FireWire

Jedná se opět o sériovou sběrnici, která byla vyvinuta pro připojení zařízení s velkým datovým tokem, jako alternativa k rozhraní USB. Podle specifikace dosahuje vyšší datový tok než sběrnice USB [21].

Paralelní rozhraní

U paralelního rozhraní probíhá komunikace mezi zařízením a řídícím počítačem paralelně, tj. data (bity) jsou přenášeny naráz. Proto každý bit potřebuje svůj vodič, dle konstrukce minimálně 8, plus další řídící vodiče, což je nevýhodou tohoto rozhraní.

2.2.2 Bezdrátová rozhraní

Mezi bezdrátové komunikační prostředky lze zařadit technologie jako je bluetooth, infračervený port (IrDA), Wi-Fi, či nové bezdrátové USB (USB wireless). Výhodou bezdrátového řešení komunikace v porovnání s drátovým rozhraním je, že umožňuje určitou mobilitu a decentralizaci ovládacího počítače a ovládaného zařízení. Níže popsané rozhraní se vztahují hlavně na stranu osobního počítače, kde popisované typy jsou již často implementovány.

Bluetooth

Tento typ bezdrátového rozhraní pracuje na frekvenci 2,45 GHz s maximálním teoretickým dosahem 100 m při výkonu 100 mW. Účinnost přenosu klesá s překážkami na trase. Výhoda tohoto rozhraní je, že mezi vysílačem a přijímačem nemusí být přímá viditelnost. Přenosová rychlost se pohybuje okolo 720 kbit/s. [22]

Infračervený port

Infračervený port k přenosu informace využívá světlo o vlnové délce 875 nm v oblasti infračerveného záření. Dosah tohoto komunikačního rozhraní je do jednoho metru. Přijímač a vysílač musí být v přímé viditelnosti, s maximálním odklonem od osy $\pm 15^\circ$, s větším úhlem rapidně klesá přenosová rychlost a dochází ke ztrátě přenosového kanálu. Komunikace funguje na principu vysílání světelných pulzů, na kterých je namodulována přenášená informace. [23]

Wi-Fi

Jedná se dnes asi o nejrozšířenější bezdrátový síťový komunikační standard. Pracuje ve volném rádiovém pásmu 2,4 GHz. Podle určitých variant se liší i maximální přenosová rychlost, která je až 20 Mbit/s. s dosahem podle výkonu do cca 100 m od vysílače. Jako

u každé bezdrátové komunikace i zde se negativně projevují překážky na komunikační cestě, díky nimž pak klesá jak dosah, tak datová propustnost. [24]

Další bezdrátová řešení

Bezdrátových komunikačních modulů existuje nepřeberné množství. Namátkou vybrané např. ZigBee nebo Aurel, které jsou určené pro volná radiová pásma. Ovšem pro takové řešení je nutné použití speciálních modulů na straně osobního počítače, které se často připojují přes nějaké jeho rozhraní (nejčastěji USB).

2.3 Napájení

Pro napájení je důležité, aby zdroj dodával potřebné napětí a proud. Napájecí zdroje lze rozdělit na klasické a spínané.

2.3.1 Klasické napájecí zdroje

Za klasický napájecí zdroj lze považovat transformátorový obvod, kde ke snižování, resp. zvyšování napětí je použit transformátor. Blokové schéma je nakresleno na Obr. 19. Jedná se lineární regulaci.

Transformátor je elektrická součástka, která se ve své nejjednodušší konfiguraci sestává ze dvou cívek navinutých na jádře. Jedna cívka je tzv. primární, tam se připojuje napětí, které chceme transformovat. Druhá cívka je sekundární, z té je odebíráno požadované napětí. Jádra jsou nejrůznějších tvarů, nejčastěji EI a C, případně M. Tyto tvary mají důležitou vlastnost pro transformátor v podobě magnetického pole. Nevýhodou transformátorů je, že umí transformovat pouze střídavý elektrický signál, ale vzhledem k tomu, že se používá k transformaci síťového napětí, není tato vlastnost omezující.



Obr. 19: Blokové schéma klasického napájecího zdroje

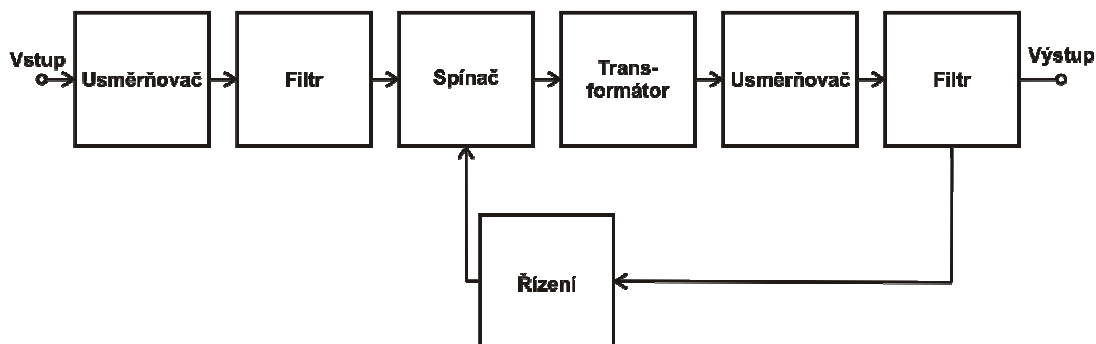
Za transformátorem se do napájecího obvodu zapojuje diodový usměrňovač. Nejčastěji se užívá můstkového zapojení (Gretzův můstek). Můstkové zapojení má tu výhodu, že jsou usměrněny obě půlvlny střídavého signálu, na rozdíl od usměrnění pomocí jedné diody.

Aby signál měl konstantní průběh bez zvlnění, je nutné použít filtrační elektrolytické kondenzátory. Dále je vhodné do obvodu zapojit nějaký stabilizační prvek. Nejjednodušší je Zenerova dioda, avšak častěji se používají monolitické integrované stabilizátory. Funkce

stabilizátoru je, aby na výstupu bylo požadované napětí, na které je daný stabilizátor konstruován nebo nastaven. Typickým zástupcem monolitických stabilizátorů jsou obvody typu 78xx (kladné) nebo 79xx (záporné).

2.3.2 Spínané zdroje

Spínaný zdroj není na rozdíl od klasického napájecího zdroje lineární, ale regulace napětí probíhá impulsně. To umožňuje při zachování stejného výkonu při podstatně menší velikosti zdroje (trafo), než by byla potřeba u lineárního zdroje. Nevýhodou tohoto řešení je větší rušení okolního zařízení od spínacích prvků, protože spínání probíhá na frekvencích od 20 kHz až do stovek kHz [25]. Zdroj se skládá z několika základních částí viz Obr. 20. Činnost je založena na spínání vstupního napětí výkonovým spínacím prvkem (např. tranzistorem). Vlastní snížení (zvýšení) napětí probíhá na vysokofrekvenčním transformátoru. Celé zapojení je řízeno zpětnou vazbou pomocí řídicí logiky. Tato konstrukce je náročnější na použité součástky vzhledem k použitým spínacím frekvencím [25].

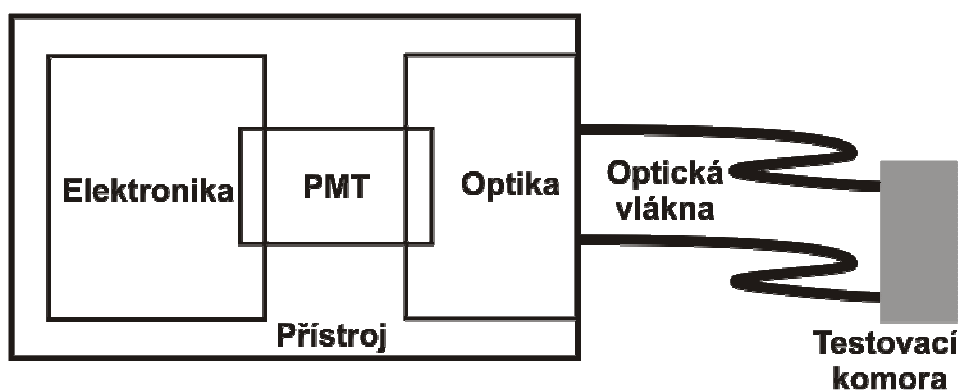


Obr. 20: Blokové schéma spínaného zdroje

Na vstupu je signál usměrněn a vyfiltrován na stejnosměrný průběh. Tento průběh je následně spínán vysokou frekvencí. Následně je na vysokofrekvenčním pulzním transformátoru přeměněn na požadované výstupní napětí. Toto napětí je poté opět filtrováno pomocí výstupního filtru na stejnosměrný výstupní signál.

3 Konstrukční návrh

Vlastní konstrukční řešení lze rozdělit na dvě hlavní části, a to na vlastní návrh fyzického zařízení a programové řešení. Programové řešení je natolik obsáhlá problematika, že jí je věnovaná samostatná kapitola. Konstrukční vrh lze rozdělit na elektroniku a mechanické řešení. Obr. 21 zobrazuje blokově konstrukci přístroje. Vlastní zařízení obsahuje uvnitř elektroniku a optiku. Předělem mezi těmito dvěma částmi je fotodetektor (PMT). Z vnějšku se připojují optická vlákna zapojená do temné testovací komory.

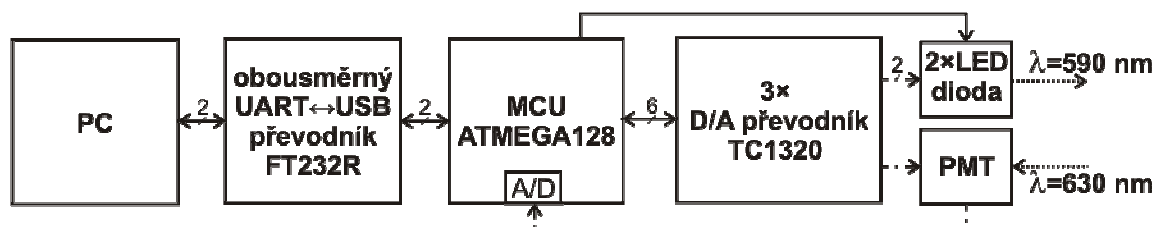


Obr. 21: Blokový obrázek přístroje

3.1 Elektrická konstrukce

Řídící a ovládací elektronika se skládá z několika hlavních částí, a to řídicího mikrokontroléru, obvodů pro komunikaci s okolím, řídicích obvodů pro generování světla a ovládání fotonásobiče a napájecí obvody.

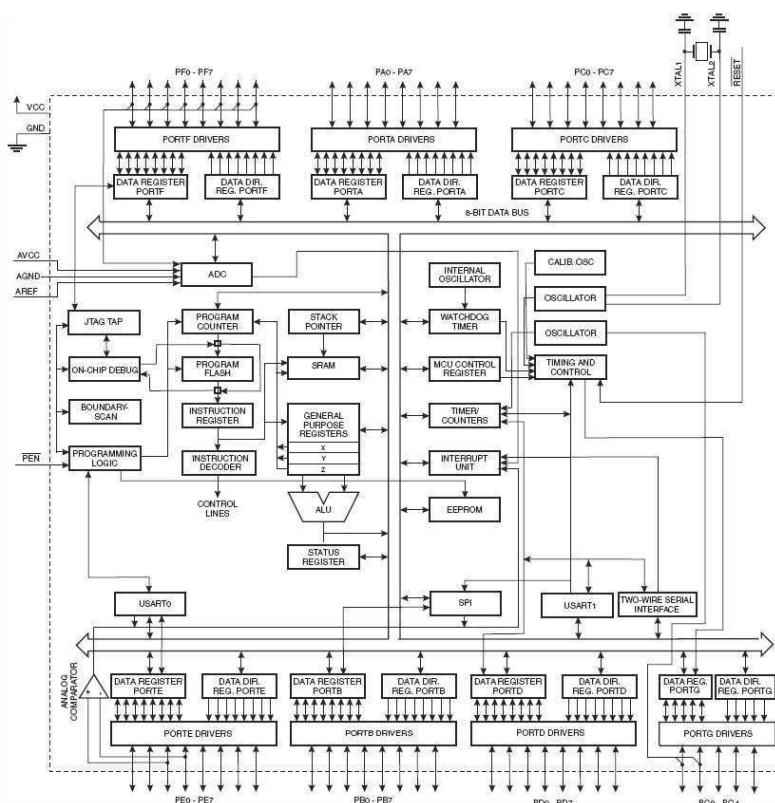
Na Obr. 22 je blokové schéma celé elektronické části. Šipky vyznačují směr toku informace, čárkovaně je vyobrazen optický signál, čerchovanou čarou jsou nakresleny analogové signály. Digitální data reprezentuje čára plná. Číslo nad šipkami symbolizuje počet signálových vodičů. Pro přehlednost nejsou zakresleny napájecí vodiče.



Obr. 22: Blokové schéma elektronické části, popis je v textu

Mikrokontrolér

Jako řídicí mikrokontrolér byl vybrán obvod ATMEGA 128 od firmy Atmel. Blokové schéma je na Obr. 23. Tento mikrokontrolér disponuje osmi analogově digitálními převodníky a 5×8 vstupně výstupními porty. Má výpočetní jádro typu RISC s rychlosti 16 milionů instrukcí za vteřinu. Napájecí napětí je 5 V a proudová spotřeba 40 mA při plném výpočetním výkonu. [26]. Programování tohoto MCU je v této aplikaci pomocí sériové komunikace. Mikrokontrolér plní řídicí funkci, tj. má na starosti řízení celé aplikace, přijímání instrukcí od ovládacího osobního počítače a vysílání naměřených dat. Naměřená data z optického detektoru jsou převedena v interním analogově-digitálním převodníku na digitální informaci. Pro komunikaci s okolím je použito rozhraní UART. Dále je využíván vnitřní časovač pro vytvoření časové základny při použití přepínání mezi oběma měřicími kanály

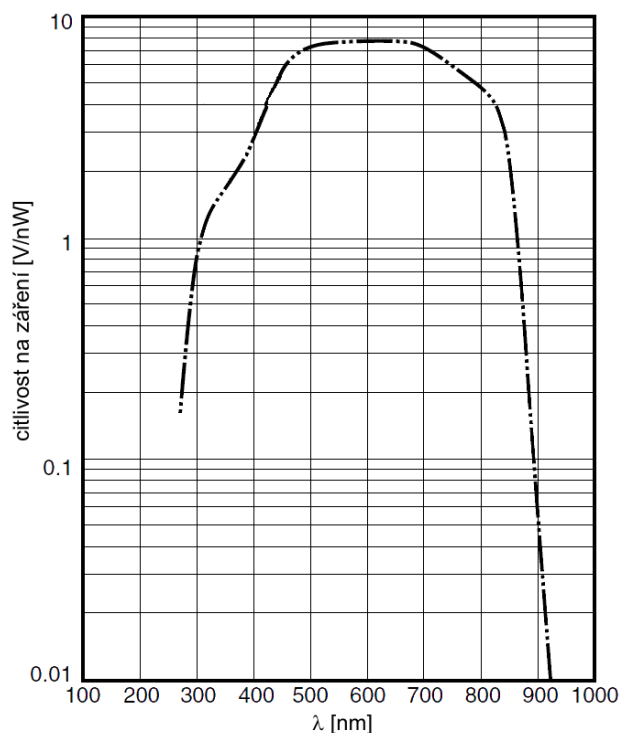


Obr. 23: Blokové schéma mikrokontroléru ATMEGA128 [26]

Snímač generovaného záření

Použití fotonásobiče je v této aplikaci jeden z nejdůležitějších prvků. Vzhledem k rozsahu použití, byl vybrán výrobek H5784-20 firmy Hamamatsu. Tento snímač může zpracovat generované záření v rozsahu vlnových délek 300 nm až 900 nm, přičemž nejcitlivější je na záření s vlnovou délkou 630 nm. Typický průběh citlivosti na vlnové délce je na Obr. 24.

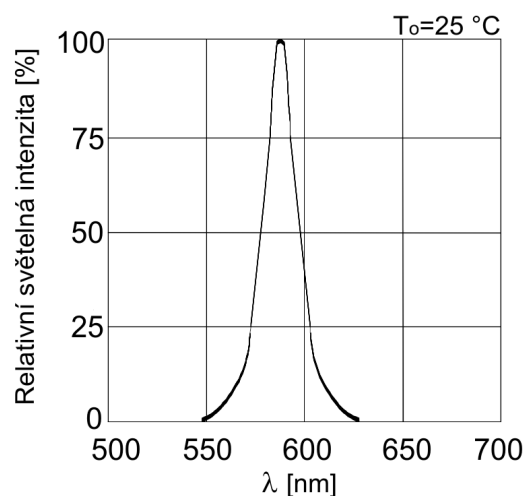
Tento modul má již integrován vysokonapěťový zdroj, vyznačuje se nízkou spotřebou do 10 mA a vyžaduje symetrické napájení ($\pm 11,5$ až $\pm 15,5$) V. Výstup z toho modulu je analogový, přes koaxiální kabel. Modul také umožňuje napětím řídit velikost zesílení od 10^2 do 10^6 a tím i úroveň detekovatelného záření. [27]



Obr. 24: Průběh citlivosti na záření vzhledem k vlnovým délkám spektra, [27] upraveno

Zdroj budícího záření

Jako zdroj optického signálu, který je použit k vybuzení zkoumaného vzorku, je použita LED dioda firmy Everlight, typ 383-2UYC/S400, která generuje záření o vlnové délce 590 nm. Maximální šířka pásma záření je 7,5 nm na každou stranu od dominantní vlnové délky ($\Delta\lambda = 15$ nm). Vyzařovací úhel není vzhledem k použití v aplikaci prioritním parametrem.



Obr. 25: Spektrum záření LED, převzato z [28]

Komunikační rozhraní

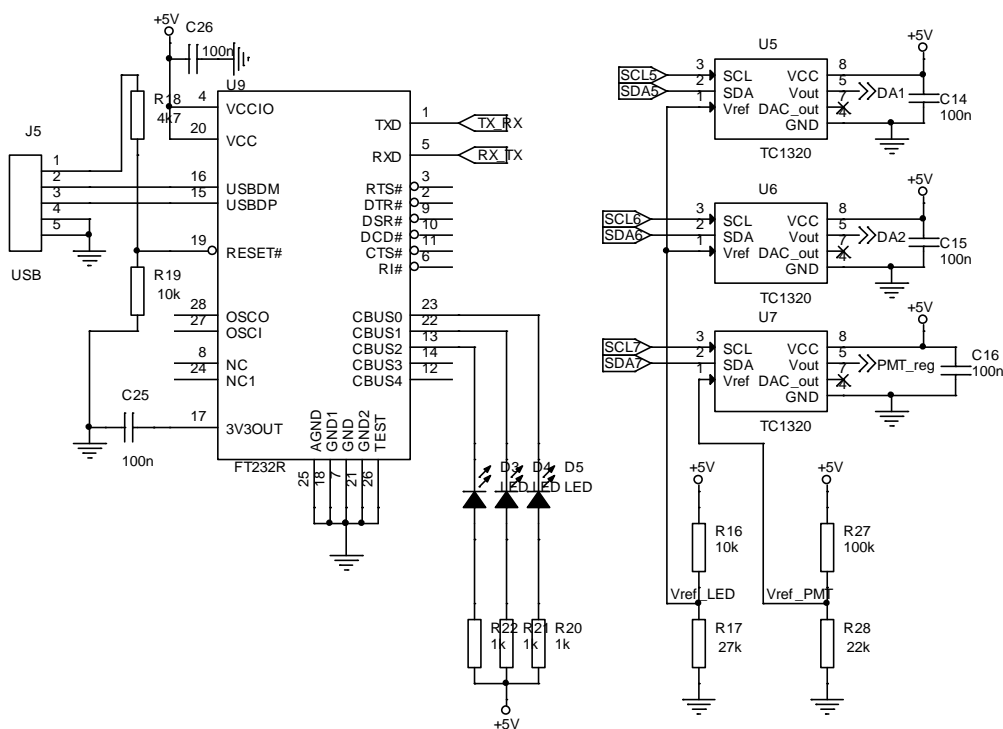
Pro komunikaci s okolím, ovládání a zpracování získané informace bylo vybráno rozhraní USB. Jako převodník úrovní slouží obvod FT232RL od firmy FTDI. Tento obvod komunikuje s mikrokontrolérem po sběrnici UART (univerzální asynchronní sběrnice) a ta zpracovává a vysílá, resp. přijímá data do ovládacího počítače. Pro připojení je použit konektor typu B. Zapojení převodníku je nakresleno na Obr. 29.

Napájecí obvody

Zařízení má vlastní napájecí obvody tvořené transformátorem, v provedení do desky plošného spoje, se dvěma sekundárními vinutími a stabilizátory. Zapojení je na Obr. 26. Dvojice stabilizátorů typu 7812 a 7912 vytváří symetrické napětí $\pm 12\text{ V}$ pro napájení fotonásobiče a stabilizátor 7805 zabezpečuje napájení integrovaných obvodů. Transformované napětí je usměrněno pomocí můstkového usměrňovače a filtrováno filtračními kondenzátory. Schéma napájecí části je vyobrazeno na Obr. 26. Primární vinutí transformátoru je jištěno tavnou pojistkou na jmenovitý proud 100 mA. Jednotlivé větve zdroje jsou také jištěny pojistkou, zde je použita varianta vratné pojistky (PolySwich, též PTC), pro proud 100 mA. Tyto pojistky, vzhledem k jejich konstrukci, umožňují vypnutí nejen při průchodu většího proudu než je jmenovitý vypínací proud, ale i v případě nebezpečného nárůstu teploty zařízení.

3.1.1 Řešení

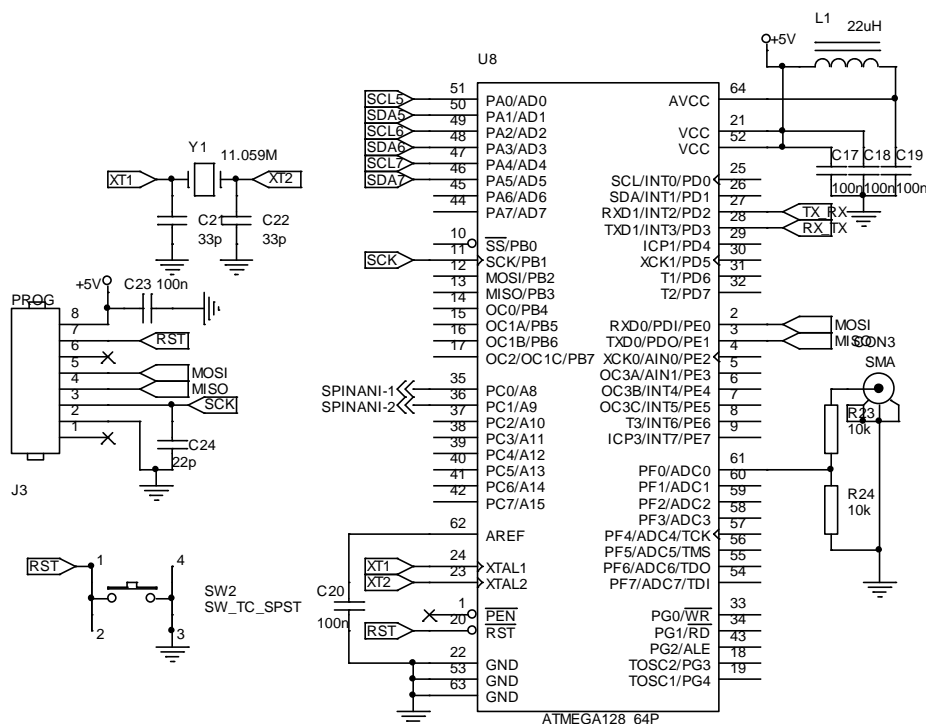
Celá elektronika je umístěna na jedné oboustranné desce plošného spoje o rozměrech 130×130 mm, na které jsou umístěny veškeré obvody včetně napájecích. Pro osazení součástkami byla použita kombinace vývodové a povrchové montáže. Zobrazení desek plošného spoje jsou v příloze 10.2. Fragment schématu digitální části je na Obr. 28. Použité sériově analogově digitální (DA) převodníky, obvody U5 a U6 slouží pro řízení proudu do LED diod a převodník U7 je pro nastavení zesílení fotonásobiče. Jsou použity obvody TC1320 od firmy Micorchip s rozlišením 8 bitů. Převodníky, které řídí proud do LED diod, mají společný zdroj referenčního napětí. Převodník pro nastavování zesílení fotodetektoru separátní zdroj referenčního napětí. Toto řešení je z důvodu různého maximálního povoleného napětí pro danou řízenou část zařízení. Pro LED diody je použitý celý rozsah digitálně-analogového převodníku. Řídící napětí fotodetektoru je maximálně 0,9 V a tomu je také uzpůsobeno referenční, potažmo výstupní napětí.



Obr. 28: Schéma digitální části – DA převodníky a komunikační rozhraní UART/USB

Na Obr. 29 je vyobrazena druhá část schématu digitální části. Důležitým prvkem je konektor (CON3) pro připojení výstupního analogového signálu z fotodetektoru. Analogový signál z fotodetektoru je pomocí integrovaného desetibitového analogově digitálního převodníku převeden na číslo a dále zpracováván. Použitý konektor je typu SMA. Ostatní

vyobrazené obvody a součástky jsou podpůrné. Důležitým prvkem je krystal, který určuje hodinový kmitočet pro jádro mikrokontroléru a pro vnitřní časovač. V aplikaci je použit krystal v kovovém pouzdře kmitající na frekvenci 11,0592 MHz. Dalšími prvky jsou programovací konektor, resetovací tlačítko a tlumivka, která odděluje napájení digitální části mikrokontroléru od napájení analogově-digitálního převodníku.



Obr. 29: Schéma digitální části – mikrokontrolér a podpůrné obvody

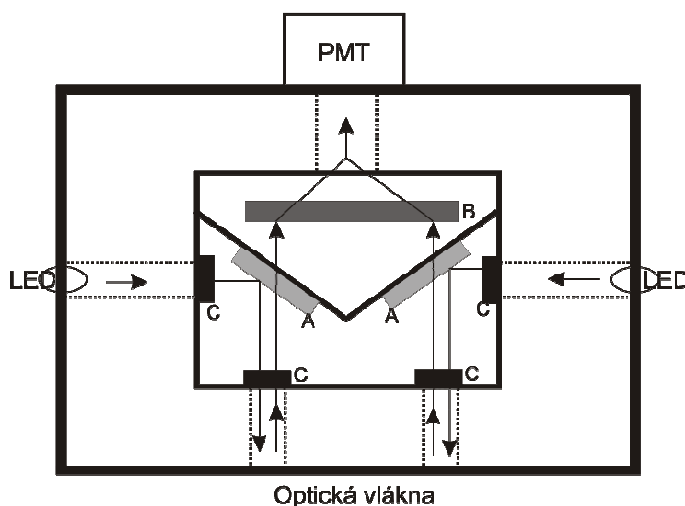
3.2 Mechanická konstrukce

Mechanická část se sestává z návrhu optické části přístroje a celkového mechanického řešení. Do mechanické konstrukce lze také zahrnout plastová optická vlákna a temná testovací komora, která je uzpůsobena k vložení zkumavky s měřeným vzorkem.

3.2.1 Optická část

K aktivaci zkoumaného vzorku je použit optický signál o vlnové délce 590 nm, který generuje světlo emitující dioda (LED). Dále se optická část skládá se soustavy filtru a polopropustných zrcadel a fokusační (zaostřovací) čočky. Schématické vyobrazení je na Obr. 30. Světlo z LED diod se šíří ve směru šipky přes optický filtr (C), který propustí jen

světlo požadované vlnové délky. Paprsek se dále odráží do polopropustného zrcadla (A), kde se světlo odrazí směrem k filtru (C) a putuje do optického vlákna, kde aktivuje měřený vzorek. Po aktivaci vzorek emituje (dle principu fluorescence) světlo o jiné vlnové délce a to se vrací zpět optickým vláknem do optické části.



Obr. 30: Schématické zobrazení optické části s vyznačenými nejdůležitějšími prvky: A – polopropustné zrcadlo, B – fokusační čočka, C – optický filtr, LED – zdroj světla, PMT – fotodetektor

Při vstupu projde filtrem (C) a pokračuje dále na polopropustné zrcadlo, které jej propustí dále až k optické čočce (B), která plní funkci zaostření světelného paprsku do snímacího fotodetektoru (PMT), jenž světlo pohlcuje a převádí na elektrický signál. Celá konstrukce, jak lze vidět na obrázku, je dvoukanálová. Dvoukanálové provedení umožňuje buď měřit dva vzorky současně a nebo, což je častější, použít druhý kanál jako zdroj referenčního signálu ze známého vzorku. Pro vybuzení záření z daného kanálu jsou jednotlivé LED diody přepínány dle nastaveného kmitočtu blikání. Celý optický držák je vyroben z hliníku a je eloxován černou barvou.

3.2.2 Přístrojová skříň

Veškeré zařízení, tj. deka plošného spoje s elektronikou, držák s optickou částí a fotonásobič jsou uloženy do přístrojové skříně o rozměrech (160 × 200 × 80) mm. Na předním panelu jsou dvě šroubové přípojky pro napojení optických vláken a kontrolní LED dioda, která signalizuje zapnutí přístroje. Zadní panel obsahuje EURO zásuvku s RLC filtrem pro připojení síťového napájecího kabelu (~230 V). Dále pak pojistku, vypínač napájení a konektor USB typ B pro připojení k ovládacímu osobnímu počítači. Z horní a spodní strany přístrojové skříně jsou větrací otvory. Celé zařízení má hmotnost 1,58 kg. Fotografie zařízení jsou v příloze 10.3.

4 Programové vybavení

Vyvíjené zařízení se sestává ze dvou programů. Prvním je programové vybavení pro řídicí mikrokontrolér a druhým je software pro osobní počítač. Celé zařízení je koncipováno tak, že veškeré uživatelské ovládání (vstup parametrů měření a naměřené výstupy) obsluhuje program v ovládacím osobním počítači. Programové vybavení pro mikrokontrolér slouží pro ovládání technického vybavení přístroje (LED diody, optický snímač). V jednotlivých podkapitolách jsou podrobně rozebrány oba dva programy. Při vytváření programu pro mikrokontrolér byla použita literatura [29] spolu s [30] a [31].

4.1 Program pro mikrokontrolér

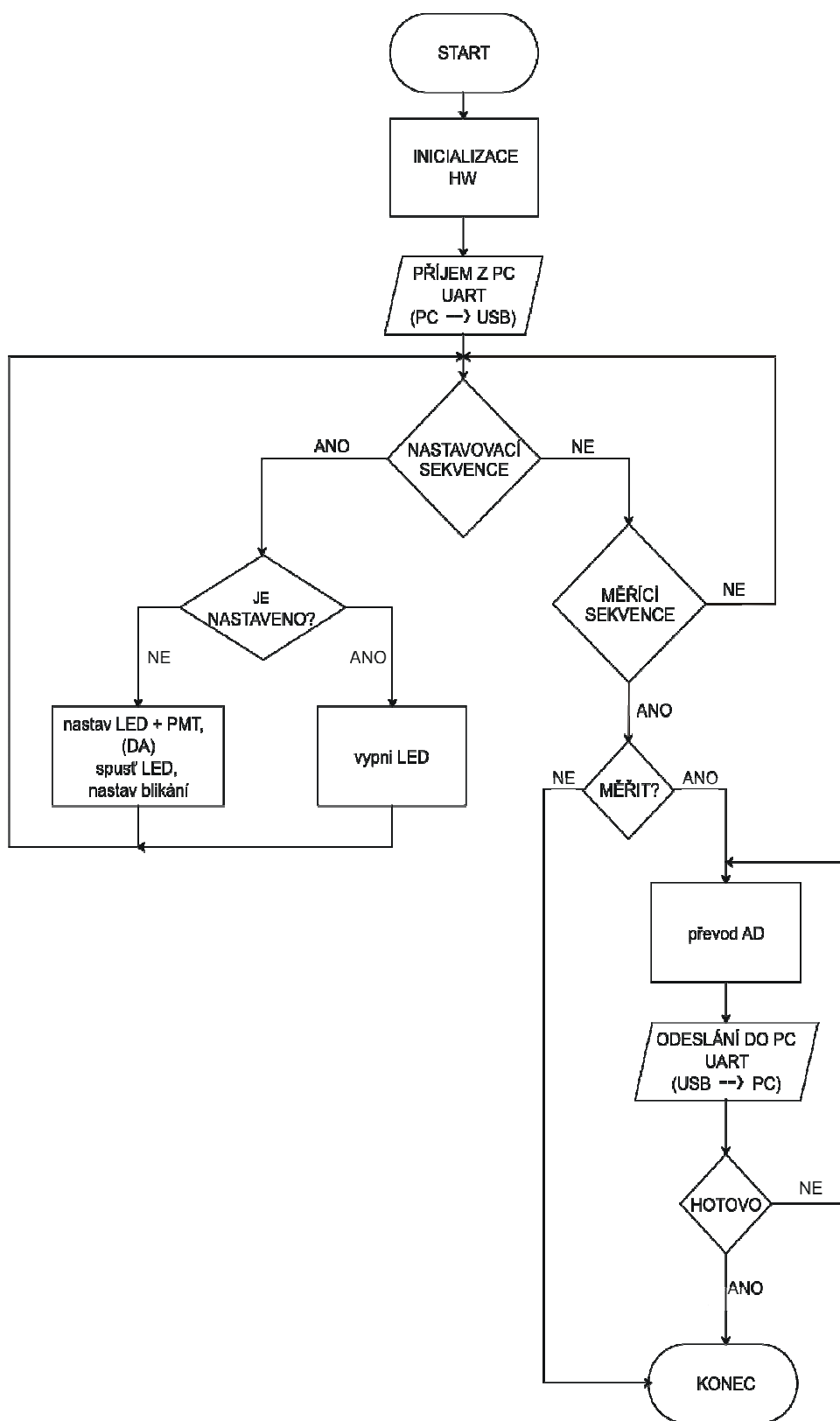
Programové vybavení pro použitý mikrokontrolér bylo napsáno v jazyce C v programovacím prostředí AVR Studio (verze 4.16.638) od firmy Atmel. Na Obr. 31 je nakreslený blokový diagram programu.

Program je koncipován tak, že při zapnutí přístroje proběhne inicializace zařízení, tj. nastavení výchozích hodnot pro AD a DA převodníky a spuštění komunikačního rozhraní UART, které slouží pro komunikaci s osobním počítačem. Po inicializaci program, resp. zařízení čeká na uživatelský vstup. Podle typu přicházejících informací provede nastavení periférií nebo spustí měření (rozhodování nastavení \times měření na Obr. 31). Při nastavování periférií se ovládají externí DA převodníky, které nastaví výstupní hodnotu podle přicházejících informací. Program čeká tak dlouho dokud nepřijme jeden z řídicích povelů.

Příjem dat z jednotky UART probíhá v přerušení (asynchronní řízení mimo aktuálně probíhající program) a má prioritu, tj. pokud probíhá měření (zpracování dat) a dojde uživatelsky ke změně nastavení přístroje, jsou tyto údaje přijaty a zpracovány. Dále je v přerušení řízeno přepínání kanálů dle uživatelsky nastavené periody. Číslo, které uživatel zadá je čas, po který svítí jeden měřicí kanál.

Převod analogového signálu na digitální v integrovaném 10bitovém převodníku probíhá, kvůli zamezení rušení z jádra mikrokontroléru, při jeho uspání. Převedený signál je pomocí jednotky UART odeslán do ovládacího počítače.

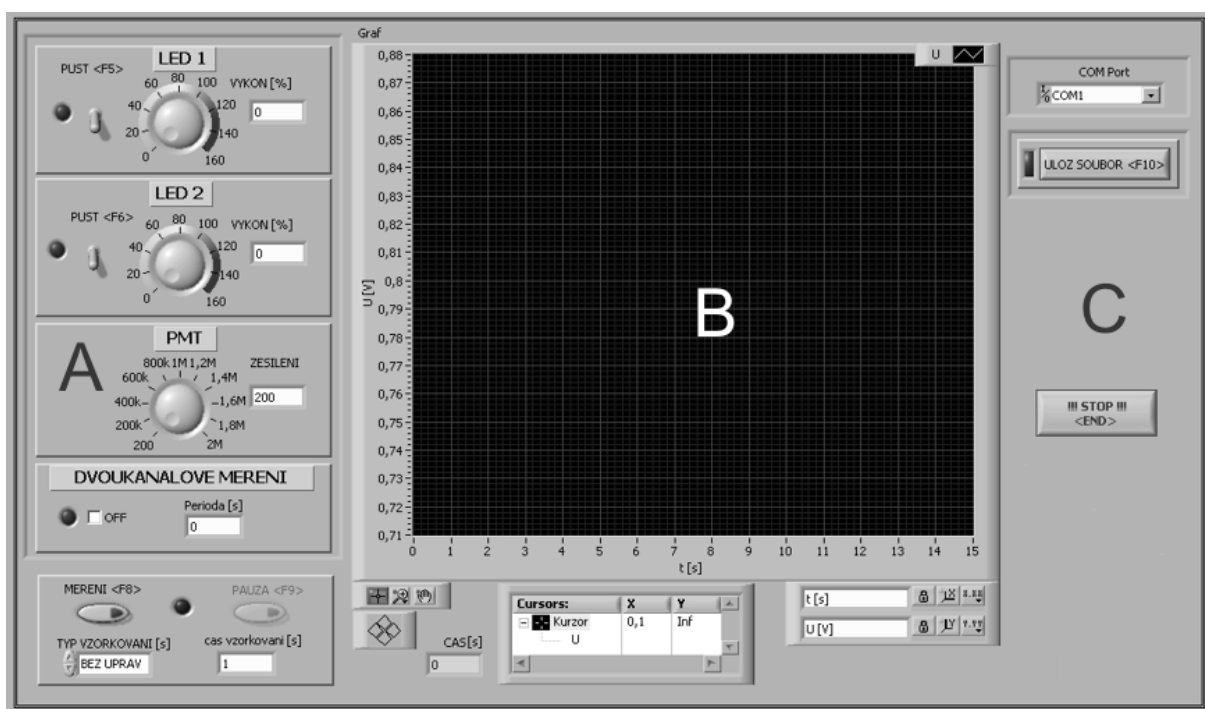
Celkový výpis programu je na přiloženém datovém nosiči.



Obr. 31: Blokový diagram programu pro mikrokontrolér

4.2 Program pro osobní počítač

Uživatelský program pro osobní počítač byl vytvořen v programu LabView 8.6 a vycházel z požadavků zadavatele. Má jedno okno, které je rozdělené na tři hlavní části. V části A jsou ovládací prvky pro nastavení uživatelského vstupu. Ve střední části (B) je graf, kde se zobrazují naměřené hodnoty. V části C jsou ostatní nastavení. Celý panel je zobrazen na Obr. 32. Program pro svůj chod vyžaduje nainstalované běhové prostředí LabVIEW Run-Time Engine 8.6. Pro napsání programu v osobním počítači byla použita literatura [32] a [33].



Obr. 32: Uživatelské okno ovládacího programu

Program disponuje několika klávesovými zkratkami, které zrychlí ovládání aplikace. Všechny zkratky jsou shrnuté v Tab. 1. Pro snadnější použití jsou příslušné klávesy zobrazeny ve špičatých závorkách hned u ovládacího prvku, který zastupují.

Program obsahuje dva typy nápovědy. První je bublinová nápověda, kde se u kurzoru myši zobrazí bublina, ve které je krátký popis funkce ovládacího prvku. Druhým typem je obsáhlejší textová nápověda, která se zobrazí po stisknutí funkční klávesy F1, nebo příslušného ovládacího prvku (Menu→Help→Help this VI). Nápověda je hypertextová ve formátu HTML souboru a obsahuje podrobný popis funkcí a přístroje.

Tab. 1: Klávesové zkratky v programu

Klávesová zkratka	Význam
F1	Nápověda
F5	Zapíná / vypíná kanál 1
F6	Zapíná / vypíná kanál 2
F8	Zapíná / vypíná měření
F10	Uloží naměřená data do programu Excel
END	Ukončí běh programu

Nastavovací panel (A)

První dva nastavovací bloky (název LED1 a LED 2) slouží k nastavení jasu LED diod. Vypínačem v levé části se konkrétní LED zapíná a otočným kolečkem se nastavuje jas v procentech. Taktéž je možné tuto hodnotu nastavit vepsáním příslušného čísla do textového pole. Zelený indikátor slouží pro zobrazení je-li daná LED v provozu nebo není. Nastavovací krok je 1 %.

Další nastavovací prvek (název PMT) je pro nastavení zesílení fotodetektoru. Nastavení probíhá podobně jako u nastavování LED diod s výjimkou spouštění.

Ve čtvrtém bloku je možné spustit dvoukanálové měření a nastavit periodu přepínání LED. Nastavení je v sekundách. Zadává se celá perioda tj. čas svitu obou LED. Každá led svítí 1/2 periody. Před spuštěním je nutné nastavit jas LED diod v příslušném panelu (LED 1 a LED 2).

Tab. 2: Možný výběr zpracování měřených dat

Číslo funkce	Typ (název funkce)	Vysvětlení
1	Bez úprav	Výstup signálu je nezměněn
2	Medián 10	Z příchozích vzorků je počítán medián po dobu 10 s
3	Medián 60	Z příchozích vzorků je počítán medián po dobu 60 s
4	Medián 100	Z příchozích vzorků je počítán medián po dobu 100 s
5	Průměr 10	Vzorky jsou průměrkovány po dobu 10 s
6	Průměr 60	Vzorky jsou průměrkovány po dobu 60 s
7	Průměr 100	Vzorky jsou průměrkovány po dobu 100 s
8	Uživatelské	Uživatel si může zvolit čas převzorkování příchozího signálu z rozsahu (1 ÷ 600) s

V poslední panelu se spouští a vypíná měření a nastavuje typ úpravy vstupních dat. Na výběr jsou možnosti shrnuté v Tab. 2. U položek 2 až 7 včetně se jedná o to že, vstupní data jsou uchovávaný v paměti po nastavenou dobu podle funkce (10 s, 60 s nebo 100 s) a ze získaných hodnot program vypočítá použitou funkci, tj. z přijatých vzorků hodnot je vypočítán průměr nebo medián.

Ostatní nastavení (C)

Panel C, viz Obr. 32, slouží k nastavení komunikačního COM portu, na který je přístroj připojen. Tlačítko „Ulož soubor“ ukládá data do programu Excel. Data do Excelu se automaticky přenášejí z programu po stisknutí tohoto tlačítka. V hlavičce dat je informace o datu a času měření a následuje sloupec času a sloupec napětí. Ukázka výstupu je na Obr. 33.

	A	B	C
1	Naměřené hodnoty z		
2	26.4.2010	8:39:13	
3			
4	t [s]	U [V]	
5	0,328129	0,9375	
6	0,968762	0,9375	
7	1,609396	0,9375	
8	2,250029	0,9375	
9	2,890662	0,9375	
10	3,531295	0,9375	
11	4,156303	0,9375	
12	4,796936	0,9375	
13	5,453195	0,9375	
14	6,093828	0,9375	
15	6,734461	0,9375	
16	7,375094	0,9375	
17	8,011253	0,9375	

Obr. 33: Ukázka výstupu z programu v programu Microsoft Excel.

Zobrazení naměřených dat (B)

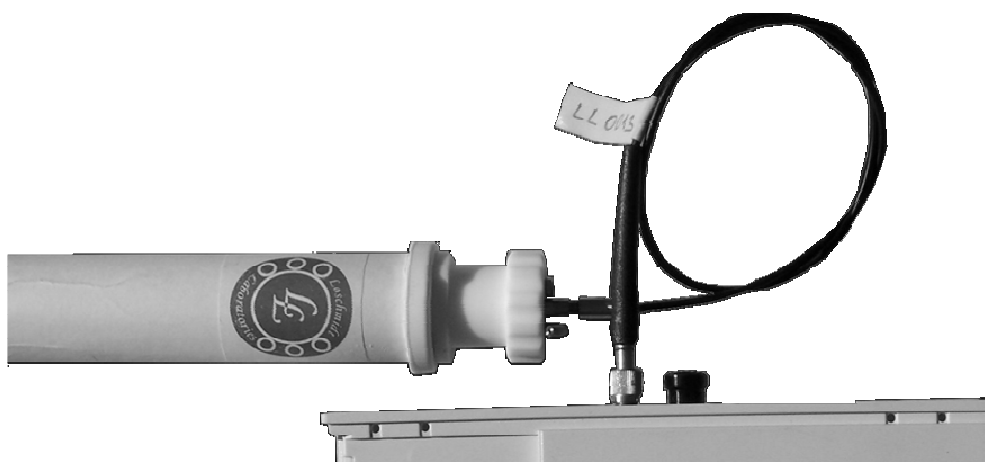
Střední část panelu zobrazuje v grafu naměřená data (závislost napětí na čase). Osa X a osa Y mají automatické nastavování rozsahu v závislosti na vstupních datech. Kurzory umožňují manipulaci s naměřeným průběhem. Kliknutím pravým tlačítkem je možné provést další nastavení (pevné osy, formát čísel) nebo uložení grafu do obrázku. Pole čas zobrazuje aktuální dobu měření v sekundách. Další nástroj umožňuje pomocí lupy zvětšit určitou oblast grafu, což je vhodné např. pro vyhledání přesné hodnoty vybrané špice na měřeném průběhu. Tato funkce umožňuje např. vyhledání požadovaného bodu na křivce měřeného průběhu.

5 Testovací měření

Testovací měření probíhala na zkušebních roztocích fluorescenčního pH indikátoru 5(6)-carboxynaphthofluorescein, který byl smíchán s 20 ml fosfátového pufru. Vzorek o definovaném množství látek nalitý do připravené speciální zkumavky byl umístěn v temné testovací komoře v konfiguraci, jak je vidět na Obr. 34. Měření probíhalo za podmínek uvedených v Tab. 3. Pro zlepšení účinnosti měření byly testované vzorky průběžně míchány magnetickým míchadlem. Optické vlákno bylo multimodové plastové s velkým průměrem jádra.

Tab. 3: Podmínky testovacího měření

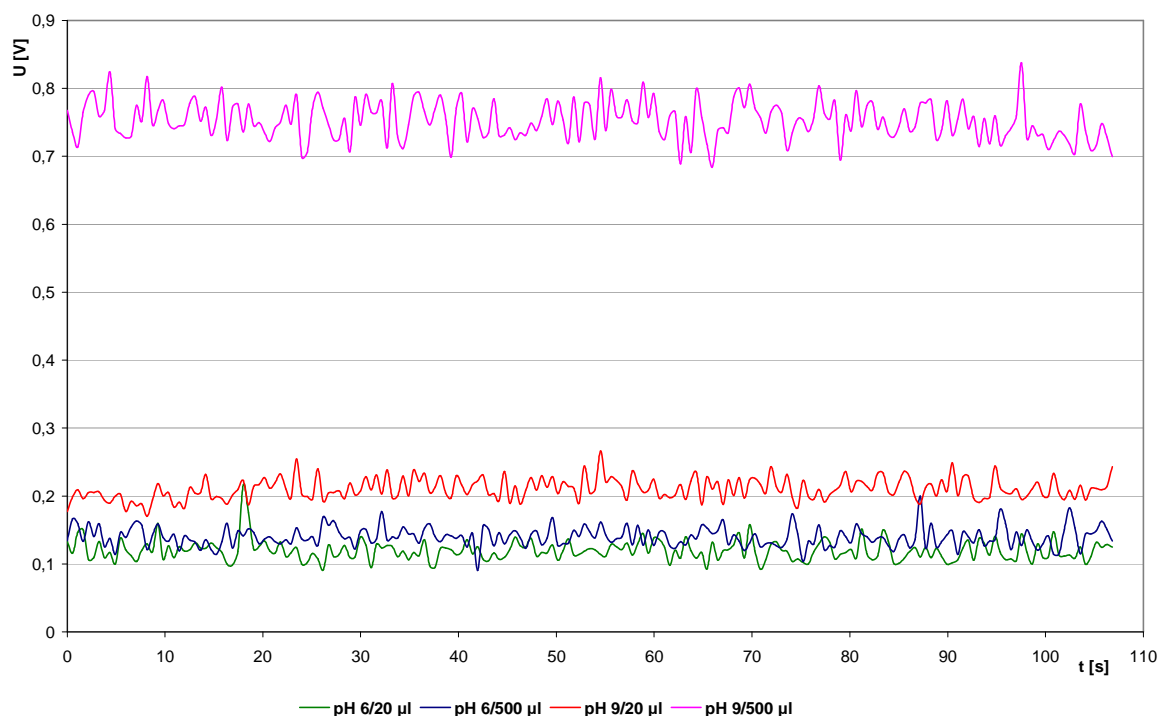
Teplota okolí	25 °C
Jas LED diod	100 %
Zesílení fotodetektoru	2 000 000
Rychlost vzorkování pro původní signál	0 s
Rychlost vzorkování pro upravený signál	10 s



Obr. 34: Měřicí komora a optické vlákno

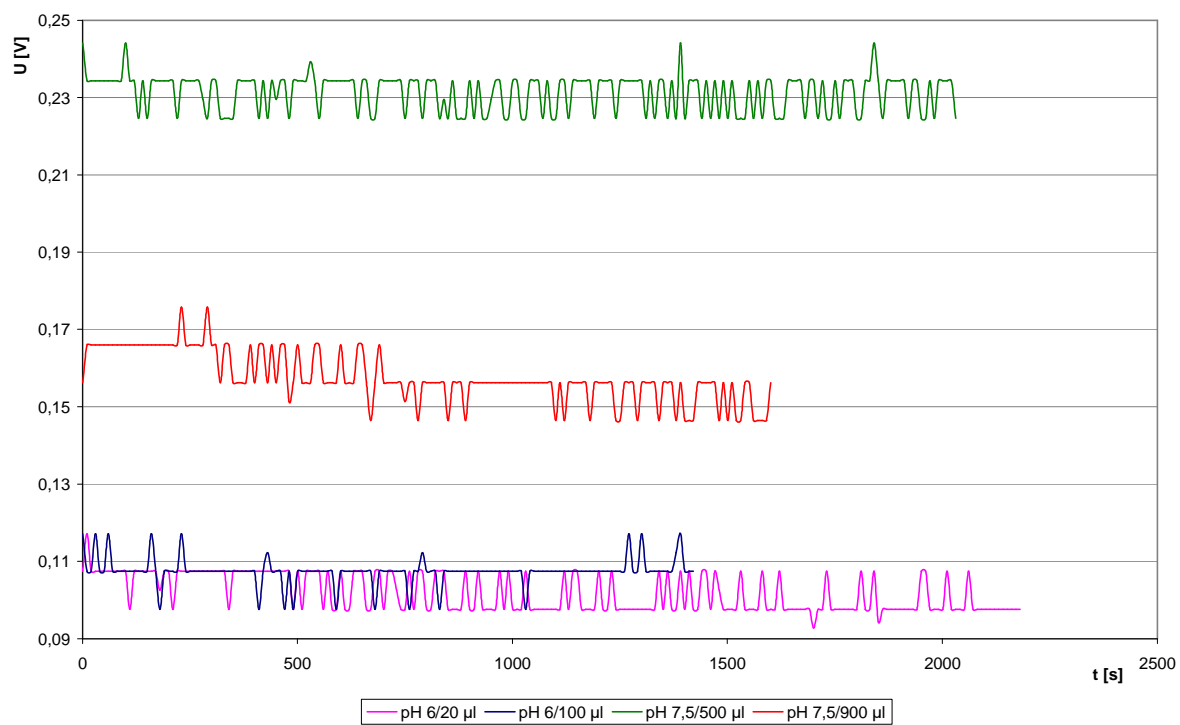
Změřené průběhy jsou vyobrazeny v grafu na Obr. 35. Výstup z měření je velikost napětí v závislosti na čase ($U = f(t)$). Graf na obrázku ukazuje měřený průběh pro roztok o hodnotě pH 6 a množství fluorescentu 20 μ l a 500 μ l. Zásaditější roztok o hodnotě pH 9 a stejných objemech fluorescenčního barviva byl druhým testovaným vzorkem. Z grafu je patrné, že největší odezvu měl roztok 500 μ l a pH 9. Významný rozdíl mezi hodnotami pH 9 je dán objemem fluorescentu. Změřený signál byl dost zašuměn, proto byla do programu

zakomponována programová úprava naměřeného průběhu. Výsledný signál je na Obr. 36. Signál byl převzorkován s periodou 10 s, a byl podroben filtraci pomocí funkce medián, kdy výsledná hodnota byla vypočítána ze vzorků, které přicházely ze zařízení v průběhu desetisekundové doby vzorkování. Vzhledem k množství dat, jenž jsou naměřena a rychlosti změn, které nastávají při měření, nejsou tyto úpravy signálu kritické na ztrátu potřebné informace.



Obr. 35: Graf naměřených průběhů

Měřením se zjistilo, že použitá konfigurace enzym – vlákno není nejvhodnější. Jako řešení se jeví použití tzv. tapered (konický průřez) optických vláken, která dokáží pojmout více enzymu. Další možností zlepšení je modifikace imobilizační procedury.



Obr. 36: Graf naměřených průběhů po úpravě změřených dat

6 Závěr

V rámci této diplomové práce bylo navrženo a zkonstruováno zařízení, které má sloužit jako fluorescenční analyzátor nebezpečných látek ve vodě. Přístroj byl navržen pro použití v laboratoři, kde jsou udržovány stálé klimatické podmínky. Konstruované zařízení bylo postaveno jako prototypový kus. Celý přístroj i s testovací komorou je vyobrazen na Obr. 37.

Toto zařízení bylo podrobeno detailním testům v Loschmidtových laboratořích Masarykovy univerzity v Brně, pro které byl přístroj konstruován a vyroben. Ze změřených výsledků vyplynulo, že výstupní signál není ideální. Pro lepší výstupní signál byly programově přidány filtrační metody, ale v průběhu dalšího měření se zjistilo, že na vině je malá plocha, na kterou je nanesený reakční enzym. Řešením je použití vláken s větším průřezem jádra, tzv. tapered vláken.

Po ověření funkčnosti, měřící metody a dořešení případných problémů tohoto výrobku by měl sloužit jako analyzátor použitelný i v terénu. Tato aplikace by pak vyžadovala napájení z baterie.



Obr. 37: Kompletní zařízení včetně testovací komory

7 Použitá literatura

Seznam literatury je řazen podle použití při zpracování textu.

- [1] SKLÁDAL, Petr. Biosenzory [online]. Dostupný z WWW: <<http://orion.chemi.muni.cz/pskl/vyuka/Biosensory.pdf>>.
- [2] TRÖGL, Josef. Biosenzory. Automa [online]. 2004, č. 4 [cit. 2008-11-29]. Dostupný z WWW: <http://www.odbornecasopisy.cz/index.php?id_document=31055>. ISSN 1210-9592.
- [3] BIDMANOVÁ, Šárka. *Development and Construction of Biosensors for Detection of Halogenated Compound in the Enviroment*. Brno, 2007. 75 s. Diplomová práce. Masarykova Univerzita, Přírodovědecká fakulta, Ústav experimentální mikrobiologie. Vedoucí práce Doc. Mgr. Jiří Damborský, Dr.
- [4] *Sensor Science and Molecular Physics* [online]. 2010 [cit. 2010-05-08]. Surface Plasmon Resonance. Dostupné z WWW: <www.ifm.liu.se/applphys/sensor/spr.html>
- [5] *Luminescence* [online]. Wikipedia, The Free Encyclopedia., 2009 , 25 March 2009 06:23 UTC [cit. 2009-03-28]. Dostupný z WWW: <<http://en.wikipedia.org/wiki/Luminescence>>.
- [6] KORBÁŘ, Tomáš, STRÁNSKÝ, Antonín. *Technický naučný slovník*. Praha : SNTL, 1962. 5 sv. (656, 672, 668, 676, 618 s.). ISBN 04-001-62.
- [7] DOLEČEK, Jaroslav. *Moderní učebnice elektroniky -3. díl : Optoelektronika a optoelektronické prvky*. Praha : BEN - technická literatura, 2005. 160 s. ISBN 80-7300-184-5.
- [8] SVOBODA, Jaroslav. *Telekomunikační technika : zprávy, signály, přenosová prostředí*. 1. vyd. Praha : Hüthing&Beneš, 1998. 136 s. ISBN 80-901936-3-3.
- [9] *GES-ELECTRONICS* [online]. 2010 [cit. 2010-04-25]. HLMP-EG08-Y2000 - GES-ELECTRONICS. Dostupné z WWW: <<http://www.ges.cz/hlmp-eg08-y2000-ges10404385.html>>
- [10] *Laser: Wikipedie, otevřená encyklopedie* [online]. 2008 , Stránka byla naposledy editována 1. 12. 2008 v 11:29. [cit. 2008-12-06]. Česky. Dostupný z WWW: <<http://cs.wikipedia.org/wiki/Laser>>.

- [11] HUBÁLEK, Jaromír a ADÁMEK, Martin. Mikrosenzory a mikroelektromechanické systémy: skripta. Brno: Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií VUT v Brně, 2003. 123 s.
- [12] *Lessons In Electric Circuits -- Volume III* [online]. c2010 [cit. 2010-05-08]. DIODES AND RECTIFIERS. Dostupné z WWW: <http://www.ibiblio.org/kuphaldt/electricCircuits/Semi/SEMI_3.html>.
- [13] *Fotosoučástky* [online]. 2005 [cit. 2010-05-08]. Fotosoučástky reagující na světlo. Dostupné z WWW: <<http://moryst.sweb.cz/elt2/stranky1/elt007.htm>>
- [14] REICHL, Jaroslav, VŠETIČKA, Martin. *Encyklopedie fyziky : Fotonásobič* [online]. c2006-2008 [cit. 2008-12-06]. Dostupný z WWW: <<http://fyzika.jreichl.com/index.php?sekce=browse&page=747>>.
- [15] *Fotonásobič: Wikipedie, otevřená encyklopedie* [online]. 2008 , Stránka byla naposledy editována 17. 10. 2008 v 20:00. [cit. 2008-12-06]. Dostupný z WWW: <<http://cs.wikipedia.org/wiki/Foton%C3%A1sobi%C4%8D>>.
- [16] VACÍK, Jiří, et al. *Přehled středoškolské chemie*. 2. vydání. Praha : SPN-pedagogické nakladatelství a.s., 1999. 368 s. ISBN 80-7235-108-7.
- [17] KODÍČEK, M. *denaturace*. From *Biochemické pojmy: výkladový slovník* [online]. Praha: VŠCHT Praha, 2007 [cit. 2010-03-14]. Available from www: <http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-002/ebook.html?p=denaturace>
- [18] Jednočipový počítač [online], Wikipedie: Otevřená encyklopedie, c2008, Datum poslední revize 3. 05. 2008, 19:55 UTC, [cit. 2008-05-06] <http://cs.wikipedia.org/index.php?title=Jedno%C4%8Dipov%C3%BD_po%C4%8D%C3%ADta%20&oldid=2540600>
- [19] ŘEHÁK, Jan. *USB - Universal Serial Bus - Popis rozhraní* [online]. 2009 , 7. Květen 2002 [cit. 2009-04-26]. Dostupný z WWW: <<http://hw.cz/Teorie-a-praxe/Dokumentace/ART327-USB---Universal-Serial-Bus---Popis-rozhrani.html>>.
- [20] OLMR, Vít. *HW.cz* [online]. 12. 12. 2005 [cit. 2009-03-09]. Sériová linka RS-232. Dostupné z WWW: <<http://hw.cz/rs-232>>
- [21] STAIKOS, Dimitrios. FireWire™ Reference Tutorial. *1394 Trade Association* [online]. 2010, [cit. 2010-04-09]. Dostupný z WWW: <<http://www.1394ta.org/press/WhitePapers/Firewire%20Reference%20Tutorial.pdf>>

- [22] *SearchMobileComputing.com* [online]. c2010 [cit. 2010-05-09]. Bluetooth. Dostupné z WWW: <<http://searchmobilecomputing.techtarget.com/definition/Bluetooth>>
- [23] MYSLÍK, Vladimír; ŘEHÁK, Jan. *HW.cz* [online]. 13. 10. 1998 [cit. 2009-05-09]. IrDa - Kompletní popis. Dostupné z WWW: <http://hw.cz/docs/irda/irda_uvod.html>
- [24] *Začínáme s WiFi* [online]. 1998-2009 [cit. 2009-04-25]. Dostupné z WWW: <<http://tutorialy.lupa.cz/jak-na-wifi/zaciname-s-wifi/>>. ISSN 1213-070.>
- [25] KREJČÍŘÍK, Alexandr. *Napájecí zdroje*. 1. vyd. Praha : BEN - technická literatura, 1997. 352 s. ISBN 80-86056-02-3.
- [26] Atmel. ATMEGA128. 2008. 386s. [cit. 2009-04-20] Dostupné z WWW: <http://www.atmel.com/dyn/resources/prod_documents/doc2467.pdf>
- [27] Hamamatsu. Photosensor Modules H5784 Series. 2009. 2s. [cit. 2009-04-26] Dostupné z WWW:< http://sales.hamamatsu.com/assets/pdf/parts_H/H5784_series.pdf>
- [28] Everlight. 5.0mm Round Type LED Lamps. 4s. [cit. 2010-04-22] Dostupné z WWW:< <https://www1.elfa.se/data1/wwwroot/assets/datasheets/07501703.pdf>>
- [29] KADLEC, Václav. *Učíme se programovat v jazyce C*. Praha : Computer Press, 2002. 277 s. ISBN 80-7226-715-9.
- [30] KRČMÁŘ, Dalibor. *Učebnice Jazyk C*. 1. vyd. Praha : Computer Press, 2001. 185 s. ISBN 80-7226-295-5.
- [31] MANN, Burkhard. *C pro mikrokontroléry : ANSI-C, kompilátory C, spojovací programy - linkery, práce s ATMEL AVR a MSC-51, příklady programování v jazyce C, nástroje programování, tipy a triky,-*. 1. české vyd. Praha : BEN - technická literatura, 2003. 279 s. ISBN 80-7300-077-6.
- [32] TRAVIS, Jeffrey, KRING, Jim. *LabVIEW for Everyone : Graphical programming made easy and fun*. 3rd edition. USA : Prentice hall, 2006. 981 s. ISBN 0-13-185672-3.
- [33] WALKENBACH, John. *Microsoft Excel 2000 a 2002 programování ve VBA*. druhé. Brno: Computer Press, 2004. 736 s. ISBN 80-7226-547-4.
- [34] ROBENEK, Jan. *HW.cz* [online]. 27. 7. 2009 [cit. 2010-05-08]. Úvod do světa napěťové reference – 1. díl. Dostupné z WWW: <<http://hw.cz/teorie-a-praxe/art3000-uvod-do-sveta-napetove-reference-1-dil.html>>

8 Pojmy z (bio)senzorů

U každého senzoru jsou posuzovány tyto základní parametry a vlastnosti:

Citlivost je ustálená změna výstupního signálu ze senzoru v důsledku změny koncentrace měřené látky [1].

Kalibrace se provádí na měřícím systému tak, že je systém vystavován kalibračním roztokům, které mají předem známou hodnotu měřené veličiny. Kalibraci je nutné v pravidelných intervalech opakovat, aby byla zajištěna přesnost měření po celou dobu životnosti senzoru [1].

Linearita by měla být v celém měřícím rozsahu senzoru, tzn. konstantní citlivost na jakékoliv množství analytu. V praxi je senzor lineární pouze v krátké oblasti rozsahu [1].

Limitem detekce je nejnižší možná stanovitelná koncentrace měřené látky. V optimální konfiguraci by měla být dána rozlišovací schopností elektronického detektoru [1].

Rozlišovací schopnost je nejmenší přírůstek výstupu senzoru, který senzor zaznamená při změně vstupu [11].

Šum má na měření se senzory rušivý vliv. Šum bývá nejčastěji elektromagnetické povahy. Výrazný vliv na šum mají rozvodné sítě průmyslových kmitočtů. Jeho potlačení je možné pomocí stínění, použitím aktivních či pasivních filtrů a kvalitních součástek. Určitý vliv může mít i uspořádání měřícího pracoviště. Existují však i další šумы, jenž nelze nebo lze potlačit jen s obtížemi a také šумы, které jsou zcela neodstranitelné, např. vlastní šum použitých součástek a jiné. S těmito neodstranitelnými šумы je nutné předem počítat [1].

Signál pozadí je signál, který lze naměřit bez přítomnosti analytu. V praxi se tento signál odečítá od změřeného [1].

Hystereze vyjadřuje vliv předchozích měření na aktuálně probíhající měření. Je to maximální rozdíl ve výstupu při jakékoliv hodnotě měřeného rozsahu, kdy hodnota je měřena nejdříve při zvyšování a poté při snižování měřené veličiny [1],[11].

Stabilita je jedna z důležitých vlastností senzorů a je podmíněna změnou citlivosti v čase. V obvyklých případech s časem klesá, ve výjimečných případech může tato citlivost vzrůst [1].

Selekce tj. k vyčlenění detekované látky od ostatních látek přítomných ve zkoumaném vzorku. Odezva senzoru by měla být vyvolána pouze přítomností měřené látky a ostatní látky v roztoku by se neměly na měření projevit [1].

Rychlost odezvy je dána fyzikálními vlastnostmi senzoru, jako je jeho velikost nebo umístění elektrod. Je závislá na rychlosti reakce (průniku) analytu s biorekogniční vrstvou [1].

Teplotní závislost může ovlivnit chemický jev, který probíhá na aktivní vrstvě senzoru a tím znehodnotit měření v případě její změny. Je tedy nutné zajistit konstantní teplotu. V některých případech musí jít o přesně definovanou teplotu, při níž dojde k požadované reakci. V praxi se často používá termostatů k zajištění konstantní, či nastavení požadované teploty po celou dobu měření [1].

Teplotní drift je vlastnost, kdy dochází k posunu výstupního signálu vlivem teploty [34].

9 Seznam zkratek

AD	analogově digitální převodník
APD	lavinová fotodioda (avalanche photodiode)
C	druh programovacího jazyka
CCD	Charge Coupled Devices – nábojově vázaný snímač
CISC	úplný instrukční soubor
COM	sériový port
DA	digitálně analogový převodník
DSP	digitální signálový procesor
HTML	HyperText Markup Language, značkový jazyk pro hypertextový dokument
IR	infračervená oblast světelného záření
IrDA	infračervený komunikační port
LASER	Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation, zesílení optického záření pomocí vynucené emise záření.
LED	světlo emitující dioda
LPT	paralelní rozhraní
LSB	bit s nejnižším významem
MCU	mikrokontrolér
pH	vodíkový exponent, číslo, které vyjadřuje kyselost, resp. zásaditost roztoku [8].
PIN	typ diody s intrinzickou oblastí
PMT	fotonásobič, fotodetektor
PWM	pulzně šířková modulace
RISC	redukovaný instrukční soubor
RLC	obvod složený s rezistorem, induktorem a kapacitou
UART	univerzální asynchronní vysílač/přijímač
USB	univerzální sériová sběrnice
UV	ultrafialová oblast světelného záření
VCSEL	typ laserové diody
VI	okno v programu LabView

10 Přílohy

10.1 Seznam součástek

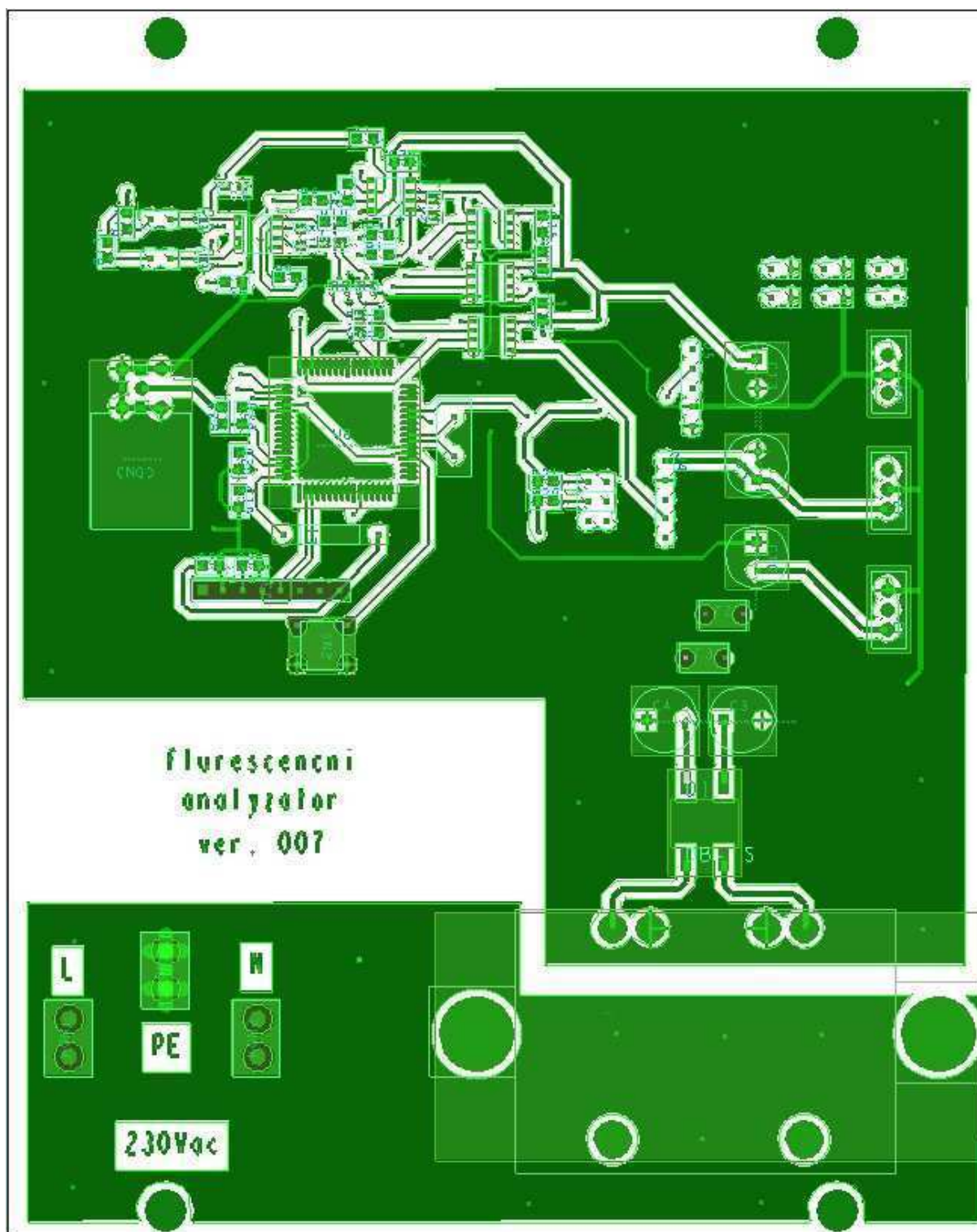
Součástka	Typ	hodnota	počet
C1,C2,C5,C6,C7,C8, C11,C12,C14,C15, C16,C17,C18,C19, C20,C23,C25,C26,C28	kondenzátor	100 nF	19
C13	kondenzátor	220u	1
C21,C22	kondenzátor	33p	2
C24	kondenzátor	22p	1
C3,C4	kondenzátor	2m2/50V	2
C9,C10	kondenzátor	220u/25V	2
CON3	konektor	SMA	1
D1	usměrňovací můstek	DB106	1
D2	LED dioda	zelená	1
D3,D4,D5	LED dioda	LED	3
D6,J7	LED dioda	žlutá	1
D7,J8	LED dioda	červená	1
F2,F3	vratná pojistka	100mA	2
J1	konektor se zámkem	2 piny	1
J2	konektor se zámkem	2 piny	1
J3	pinová lišta programovací	8 pinů	1
J4	konektor se zámkem	6 pinů	1
J5	konektor	USB B	1
KON1,KON2,KON3	konektor	Faston 6.3	3
L1	tlumivka	22uH	1
Q1,Q2	tranzistor	2N7002/S OT	2
Q3	tranzistor	IRF7304	1
Q4,Q5	tranzistor	BC847AL	2
R1,R6	rezistor	100R	2
R11,R12,R20,R21,R22	rezistor	1k	5
R13,R14	rezistor	10R	2
R15	rezistor	5k	1
R17	rezistor	27k	1
R2,R7,R16,R19,R23,R 24	rezistor	10k	6
R25,R26	rezistor	12k	2
R27	rezistor	100k	1

R28	rezistor	22k	1
R3,R8	rezistor	82R	2
R4,R9,R18	rezistor	4k7	3
R5,R10	rezistor	470R	2
SW2	mikrotlačítko	SW_TC_ SPST	1
TR1	transformátor	TRAFO EI48	1
U1	operační zesilovač	TLC27L2 A/SO	1
U2	stabilizátor	7812/TO	1
U3	stabilizátor	7912/TO	1
U4	stabilizátor	7805/TO	1
U5,U6,U7	DA převodník	TC1320	3
U8	mikrokontrolér	ATMEG A128_64 P	1
U9	převodník úrovní	FT232R	1
Y1	krystal	11.059M	1
PMT			1
pojistové pouzdro 5×20			1
EURO zasuvka s filtrem			1
sítový vypínač			1

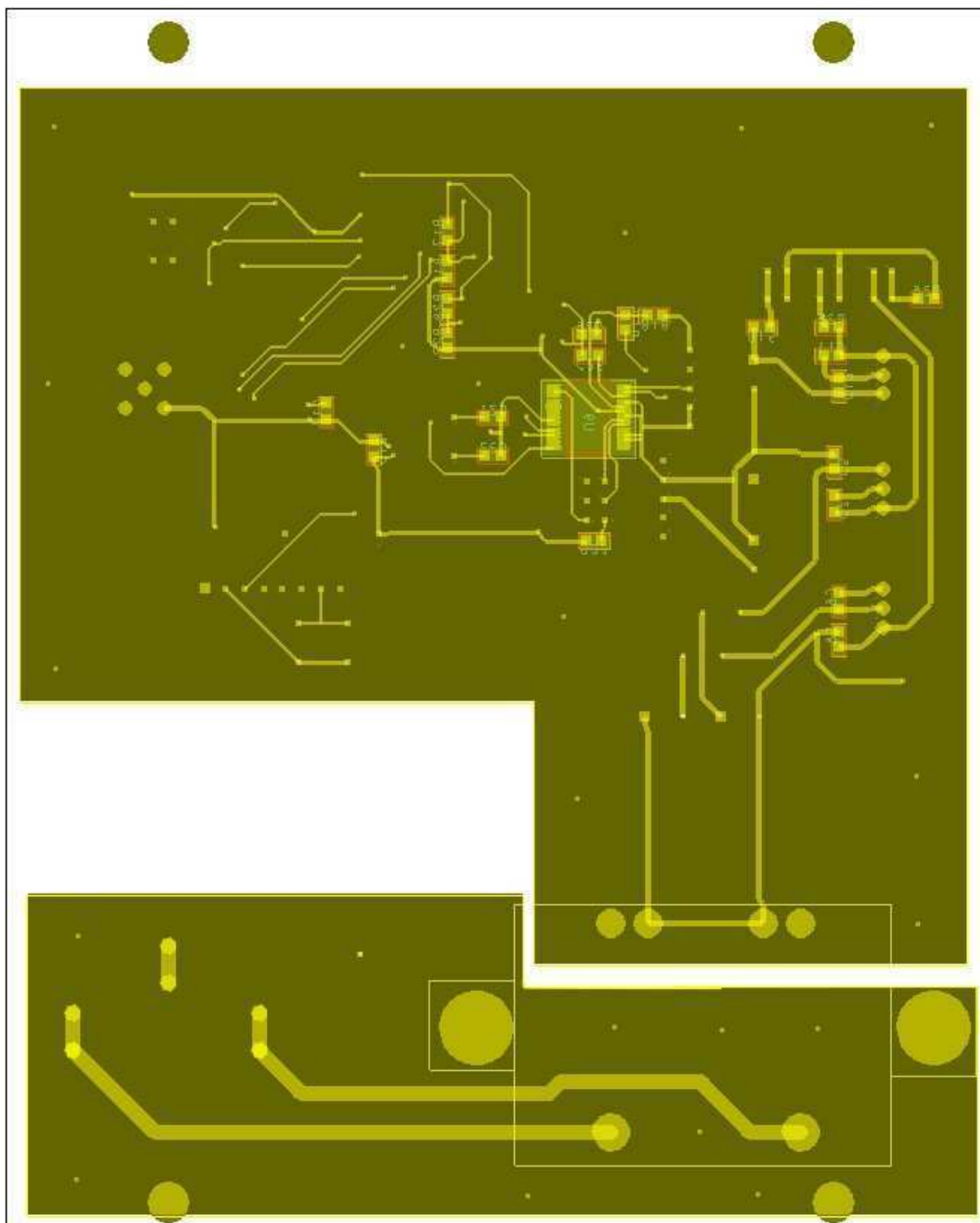
10.2 Deska plošného spoje

U všech desek je vodivý motiv a součástky

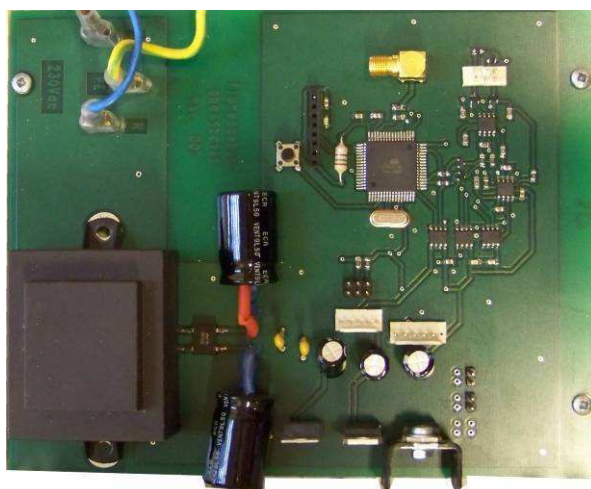
Horní strana



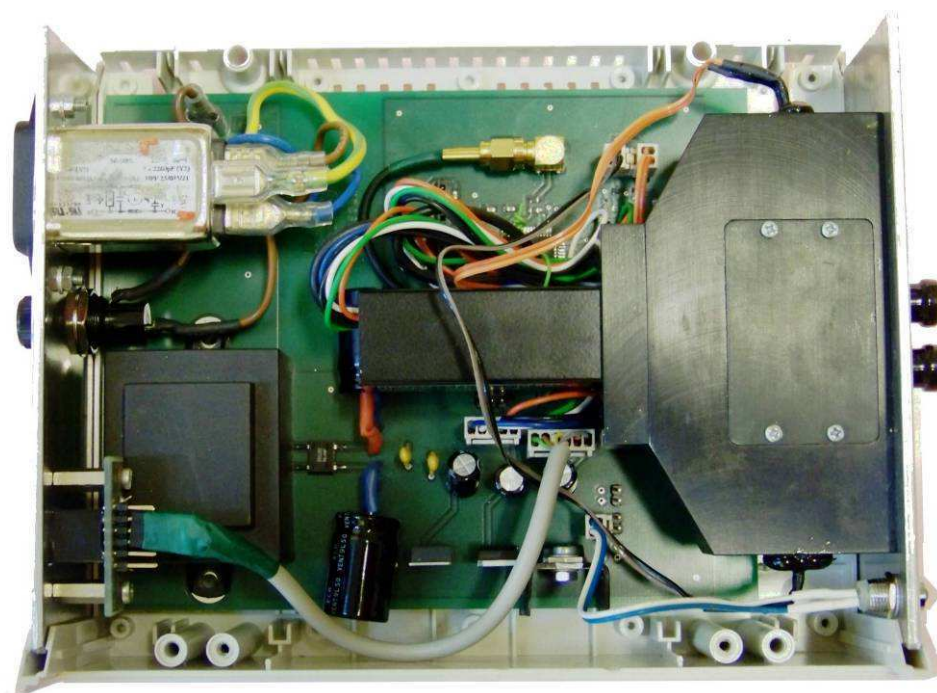
Dolní strana



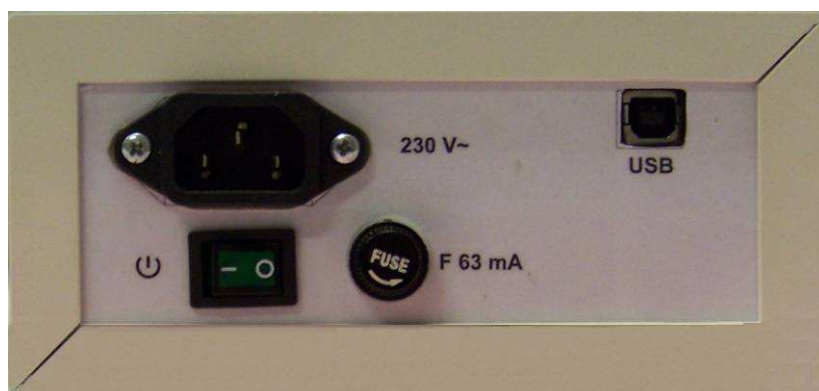
10.3 Fotografie přístroje



Osazená deska plošného spoje



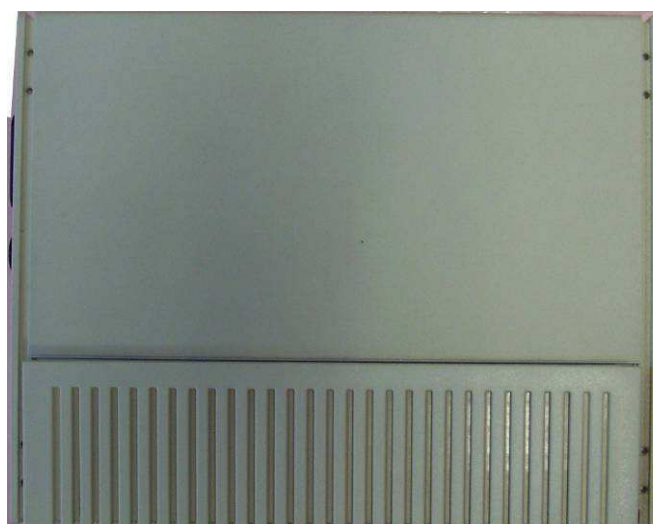
Vnitřní prostor přístrojové skříně



Zadní strana přístroje

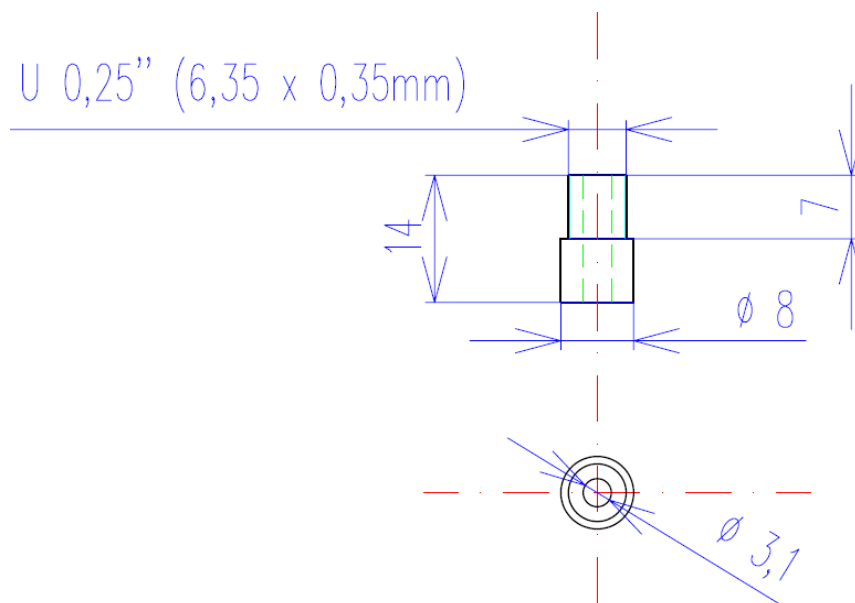


Přední strana přístroje

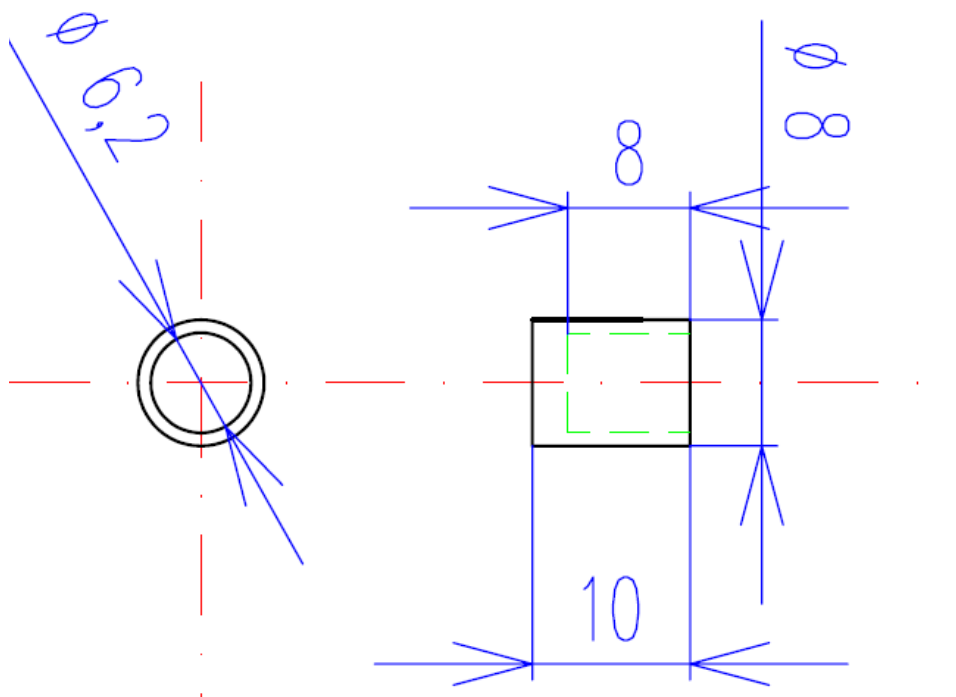


Horní pohled

10.4 Technické výkresy

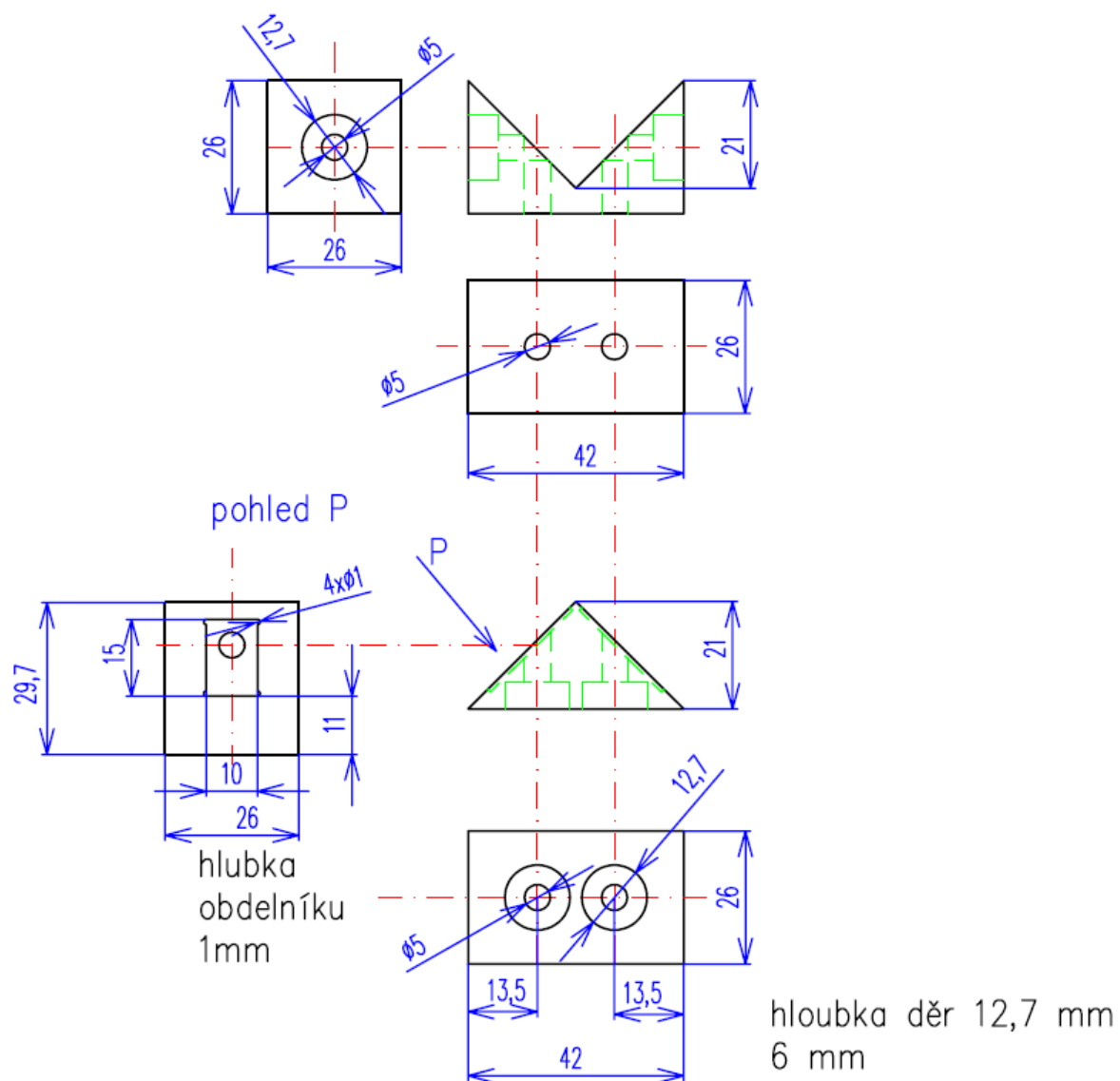


Průchodka pro vlákna



Kryt na průchodku





Optický hranol

